

**ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN
ZUR DIFFERENZIERUNG MÄNNLICHER KEIMZELLEN
DES PFERDES**

THOMAS KRÖNING

Aus dem Institut für Tieranatomie
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Lehrstuhl: Prof. Dr. F. Sinowatz
Arbeit angefertigt unter Leitung von Prof. Dr. H.-G. Liebich

ELEKTRONENMIKROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN
ZUR DIFFERENZIERUNG MÄNNLICHER KEIMZELLEN
DES PFERDES

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Thomas Kröning
aus
Melle

München 1986

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen
Fakultät der Universität München

Dekan: Prof. Dr. H. Zucker
Referent: Prof. Dr. H.-G. Liebich
Korreferent: Prof. Dr. J. von Sandersleben

Tag der Promotion: 25. Juli 1986

Herstellung: Hieronymus Buchreproduktions GmbH, München

MEINEN ELTERN

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

<u>EINFÜHRUNG</u>	1
<u>LITERATUR</u>	2
 A. Keimzellen des Samenepithels - allgemein vergleichend.....	 2
I. Embryonale Herkunft der männlichen Keimzellen.....	2
II. Adulte Differenzierung der männlichen Keimzellen.....	4
1. Allgemeine Differenzierungsvorgänge.....	4
a. Teilungsschemata.....	6
b. Spermatogonienklassifizierung.....	8
2. Spezielle Differenzierungsvorgänge.....	9
a. Differenzierung der Spermatogonien.....	9
b. Differenzierung der Spermatozyten I und II.....	10
c. Differenzierung der Spermatiden.....	11
d. Zellbesonderheiten.....	14
III. Kinetik der Spermatogenese.....	15
IV. Hormonelle Steuerung des Keimepithelzyklus.....	25
 B. Keimzellen des Samenepithels beim Pferd.....	 28
 <u>MATERIAL UND METHODEN</u>	 31
<u>BEFUNDE</u>	32
A. Ultrastrukturelle Befunde zur Spermatogenese.....	32
I. Spermatogonien.....	32
II. Spermatozyten I.....	39
III. Spermatozyten II.....	53
 B. Ultrastrukturelle Befunde zur Spermatohistogenese....	 56
I. Golgi-Phase.....	56

II. Kappen-Phase.....	63
III. Akrosomen-Phase.....	66
IV. Reifungs-Phase.....	78

<u>DISKUSSION</u>	86
-------------------------	----

A. Phaseneinteilung des Keimepithelzyklus.....	86
B. Spermatogenese.....	86
C. Spermatohistogenese.....	94

<u>ZUSAMMENFASSUNG - SUMMARY</u>	98
--	----

<u>LITERATURVERZEICHNIS</u>	100
-----------------------------------	-----

E I N F Ü H R U N G

In der Vergangenheit wurden die männlichen Keimepithelien zahlreicher Wild-, Haus- und Labortierarten zunächst lichtmikroskopisch und in den folgenden Jahren zum Teil elektronenmikroskopisch ausführlich untersucht und differenziert. Es wurde versucht, das physiologische Erscheinungsbild der Einzelzellen darzustellen und auf dieser Basis ihr Zusammenwirken und die Dynamik ihrer Entwicklung von der Stammzelle bis zum befruchtungsfähigen Spermium im Zellverband sichtbar zu machen.

So liegen elektronenmikroskopische Arbeiten über das Keimepithel des Menschen von Horstmann (1961), Dym und Cavicchia (1978) und Rowley et al. (1971), des Bullen von Lengfelder (1978), Ekstedt et al. (1986) und Sinowatz und Wrobel (1981) vor, ultrastrukturelle Untersuchungen bei der Maus führten Bryan und Wolosewick (1973), Gardner und Holyoke (1964) und Gardner (1966), bei der Ratte Brökelmann (1963), beim Kaninchen Nicander und Plöen (1969), beim Meerschweinchen Mollenhauer und Morre (1978) sowie beim Affen (*Macaca nemestrina*) Gondos und Zemianis (1970) durch.

Einen Beitrag zur Keimzellendifferenzierung beim Hengst stellten die Untersuchungen von Swierstra, Gebauer und Pickett (1974) dar, die jedoch über die lichtmikroskopische Betrachtung nicht hinausgingen.

Lediglich Spermien aus dem Ejakulat des Hengstes sind von Bielański und Kaczmariski (1979) ausführlich ultrastrukturell beschrieben worden.

Die vorliegende Arbeit hat das Ziel, über die Abklärung der Ultrastruktur der Keimzellen des Hengstes eine Grundlage für weitere andrologische und züchtungsbiologische Beurteilungsmöglichkeiten zu schaffen.

L I T E R A T U R

A. KEIMZELLEN DES SAMENEPITHELIS - allgemein vergleichend

I. Embryonale Herkunft der männlichen Keimzellen

Die Urkeimzellen werden im frühen Embryonalalter in der Wand des Dottersackes sichtbar. Sie besitzen zu dieser Zeit amöboide Fortbewegungsfähigkeit und erreichen wenig später die embryonale Gonadenanlage. Morphologisch nachweisbare Bestandteile sind zu dieser Zeit alkalische Phosphatase sowie Glykogen.

Mit der Ortsständigkeit werden die Keimzellen als Gonozyten bezeichnet, sie liegen nun in den Keimsträngen des embryonalen Hodens und zeichnen sich durch einen Filament-saum, mikrovilliähnliche Zytoplasmafortsätze, Glykogen und tubuläre Mitochondrien aus.

Etwa am Übergang zum zweiten Trächtigkeitsdrittel stellen sich die nun als fetale Spermatogonien bezeichneten Keimzellen ähnlich wie Spermatogonien der dritten Vermehrungsphase des adulten Tieres dar. Sie enthalten wenig Glykogen, die Mitochondrien vom Cristae-Typ haften dicht aneinander.

Die Keimzellen selbst sind zum Teil durch Interzellularbrücken miteinander verbunden und befinden sich oft im Zentrum des Keimstranges. Ihr Kontakt zur Basalmembran ist stets gering.

Im älteren Fetus degenerieren die fetalen Spermatogonien,

die Keimbahn wird jedoch trotz des abrupten Endes der fetalen Spermiogenese nicht unterbrochen, da ein Teil (ca. 50 % nach Vossmeier, 1971) der undifferenzierten Zellen als Stammzellen überlebt.

Diese Stammzellen sind noch zum Zeitpunkt der Geburt in den Keimsträngen lokalisiert und werden von den späteren Sertoli-Zellen umgeben.

Erst mit der eintretenden Geschlechtsreife werden aus den Urkeimzellen Spermatogonien, und mit der Umwandlung der Keimstränge in Tubuli seminiferi kann die Keimzellendifferenzierung von der A-Spermatogonie bis hin zum befruchtungsreifen Spermium ins Rollen kommen.

II. Adulte Differenzierung der männlichen Keimzellen

1. Allgemeine Differenzierungsvorgänge

Nach Berchthold (1963) ist die Spermiogenese (syn. Spermatogenese) der Gesamtoverbegriff aller Vermehrungs- und Differenzierungsvorgänge, die sich während der Entwicklung der männlichen Keimzellen in Hodentubuli abspielen und die Bildung männlicher Germinativzellen zum Ziel haben.

Zu Beginn der Spermatogenese teilen sich die Stammspermatogonien zunächst in 2 Tochterzellen, von denen eine als neue Stammspermatogonie zurückbleibt. Von der anderen Spermatogonie gehen zahlreiche mitotische Teilungen aus, deren Tochterzellen jeweils ein typisches morphologisches Bild aufweisen. Am Ende dieser mitotischen Teilungen steht die Bildung des primären Spermatozyten.

Bei der nun folgenden 1. Reifeteilung, die eine Reduktionsteilung darstellt, entstehen aus den primären Spermatozyten sekundäre Spermatozyten, die sich wiederum bei der 2. als Äquationsteilung funktionierenden Reifeteilung zu Spermatiden differenzieren. Der für die Keimzellen notwendige haploide Chromosomensatz ist also bereits ein Ergebnis der 1. Reifeteilung.

Mit der Bildung von Spermatiden sind die Teilungsvorgänge der Keimzellenentwicklung abgeschlossen. Der folgende, als Spermiozytogenese (-histogenese) beschriebene Differenzierungsabschnitt besteht nun aus reinen Strukturveränderungen der Spermatiden hin zum Spermium. Ihre auffäl-

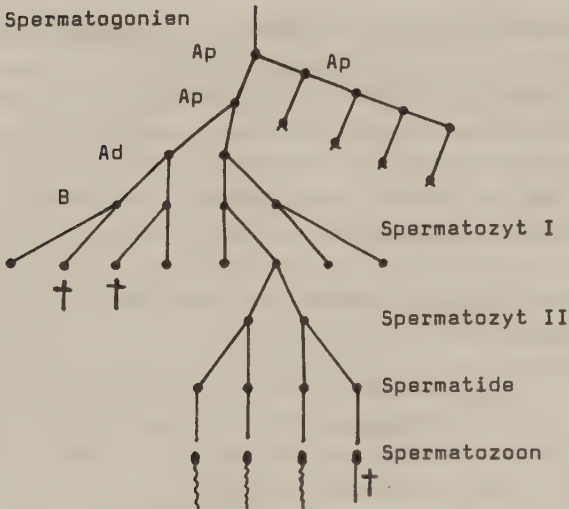
ligsten Merkmale sind die Bildung eines Akrosoms sowie eines Flagellums als Fortbewegungsorganelle. Die einzelnen Zellgenerationen der Spermatogenese werden von zahlreichen Autoren unterschiedlich eingeteilt, auch die Vorstellungen über die Entwicklungsvorgänge sind, abgesehen von den ohnehin existierenden tierartlichen Unterschieden, nicht einheitlich beschrieben.

Die Anzahl der Mitosen unterschiedlicher Tierarten wird wie folgt angegeben:

Ratte	6 x	(Clermont, Bustos-Obregon, 1968)
Bulle	5 x	(Ortravant, 1959; Kramer, 1960; Amann, 1962)
	6 x	(Hochereau de Reviers, 1970)
Schafbock	5 x	(Ortravant, 1959)
Mensch	7 x	(Roosen-Runge, 1952; Roosen-Runge und Barlow, 1953)
	3 x	(Clermont, 1963 b, 1966)
Rhesusaffe	5 x	(Clermont und Leblond, 1959)

Die folgenden Teilungsschemata sollen einen kurzen Überblick über den Grundablauf der Spermatogenese verschiedener Tierarten darstellen.

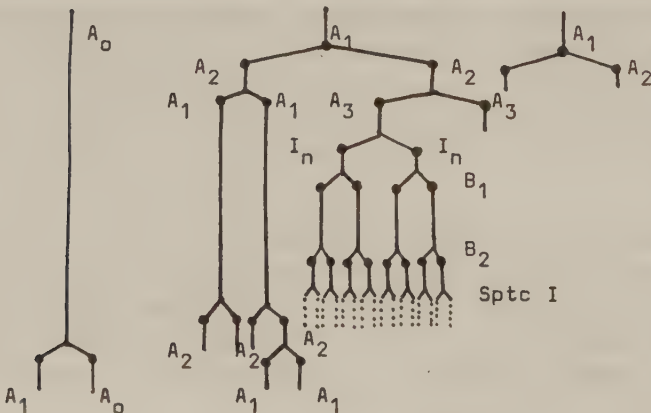
a. Teilungsschemata verschiedener Tierarten



Teilungsschema der Keimzellen des Menschen nach der Pubertät

Ap: A-pale-Spermatogonie; Ad: A-dark-Spermatogonie

(nach Holstein und Wartenberg, 1970, modifiziert von Bustos-Obregon et al. 1975)



Spermatogonienvermehrung beim Bullen

A₀₋₃: A₀₋₃-Spermatogonien; B_{1,2}: B_{1,2}-Spermatogonien;

I_n: Intermediär-Spermatogonie; Sptc: Spermatozyt I

(nach Hochereau de Reviers, 1970)

b. Spermatogonien-Typen

Allgemein werden die folgenden Spermatogonien-Typen unterschieden.

Beim Menschen beschreiben Rowley, Berlin und Heller (1971) A-long, A-dark, A-pale- und B-Spermatogonien. Bustos-Obregon et al. (1975) unterschieden zusätzlich A_0 - als Reserve- und A_1 -Spermatogonien als Erneuerungszellen.

Beim Rhesusaffen wurden A_1 , A_2 , $B_{1,2,3}$ -Spermatogonien differenziert (Clermont und Leblond, 1959).

Bei der Maus beschreibt Oakberg (1956) A-, Intermediär- und B-Spermatogonien.

Die gleiche Einteilung erkennen Nicander und Plöen (1969) beim Kaninchen

und Berchthold (1963) beim Rind, während Ortravant (1959), Kramer (1960) und Amann (1962) hier $A_{1,2}$, Intermediär- sowie $B_{1,2}$ -Spermatogonien unterscheiden.

Hochereau de Reviers (1970) fügt diesem beim Rind noch A_0 und A_3 hinzu.

$A_{1,2}$, I-, B_1 und B_2 -Spermatogonien beobachtete Ortravant (1959) auch beim Schafbock.

Die umfangreichste Spermatogonien-Differenzierung wird bei der Ratte von Clermont und Bustos-Obregon (1968) vorgenommen. Sie unterscheiden $A_{0,1,2,3,4}$, I- und B-Spermatogonien.

2. Spezielle Differenzierungsvorgänge

a. Differenzierung der Spermatogonien

Die A-long-Spermatogonie wird von Rowley et al. (1971), Holstein und Wartenberg (1970) und Bustos-Obregon et al. (1975) nur beim Menschen beschrieben.

Sie liegt flach der Basalmembran an, hat einen länglich ovoiden, unregelmäßig abgegrenzten Kern von hoher elektronenoptischer Dichte.

Der Nucleolus vom diffusen Typ ist nahe der Kernmembran lokalisiert.

Sowohl Filamentkörper (Kristalloid nach Lubesch) wie Glykogen und Lamellenkörper werden angetroffen.

Die Mitochondrien liegen häufig gruppenweise in Kernnähe. Das Zytoplasma der A-l-Spermatogonien erscheint elektronenoptisch insgesamt dicht.

A-dark-Spermatogonien stellen sich allgemein als ebenfalls längliche, flache Zellen auf der Basalmembran dar, sind jedoch etwas kleiner als A-l-Spermatogonien. Das Zytoplasma ist elektronenoptisch dunkler als das von A-long-Spermatogonien.

Der Kern ist regelmäßig begrenzt, in der Form aber ähnlich dem von A-long, zeigt im Unterschied dazu aber Kernstreifen, Kernbläschen und eine Aufhellung.

Die Mitochondrien sind gruppenweise anzutreffen, über Brücken verbunden und häufig am Kern anliegend.

Glykogen ist nachweisbar, rauhes und glattes ER tritt in

geringen Mengen auf.

A-pale-Spermatogonien sind rundliche Zellen mit weniger Kontakt zur Basalmembran und einem rundlichen bis ovoïden Kern mit Chromatin-Granula.

Die Mitochondrien dieser Zellart sind immer paarweise angeordnet und nie mit dem Kern verbunden (im Gegensatz zu A-d und Al).

Das Zytoplasma wirkt relativ elektronendurchlässig.

Intermediär-Spermatogonien sind eine gelegentlich beschriebene Zwischenstufe mit auffallend chromatinreichem Kern.

B-Spermatogonien sind als birnenförmig beschrieben, zeigen einen sphärischen, zentral liegenden Kern, der viel Heterochromatin enthält und dessen 1-2 Nucleoli auffällig zentral liegen.

In B-Spermatogonien sind nur einzeln angeordnete Mitochondrien sichtbar, insgesamt kommen auffallend viele Organellen im Zytoplasma vor.

Die B-Spermatogonien verlieren den Kontrakt zur Basalmembran.

b. Differenzierung der Spermatozyten I und II

Die Spermatozyten wurden von Holstein und Wartenberg (1970) für den Menschen wie folgt beschrieben:

Primäre Spermatozyten zeigen ein wolkiges Kernplasma mit Chromatin-Sektionen, der Golgi-Körper enthält Blasen, viele ER-Membranen berühren die Kernhülle, die Zisternen des ERs sind mit elektronendichtem Material angefüllt. Gegenüber den B-Spermatogonien erscheinen die Mitochondrien stark erweitert. Zwischen den primären Spermatozyten sind von Zeit zu Zeit Zellbrücken erkennbar. Die gesamte Zelle ist kleiner als die B-Spermatogonie.

Sekundäre Spermatozyten haben einen kleineren Kern, dessen Plasma homogen erscheint, das ER liegt mit langen Lamellen zirkulär um den Kern.

Die einzelnen meiotischen Phasen wurden ebenfalls von vielen Autoren detailliert für verschiedene Tierarten beschrieben, desgleichen die Einteilung der Umformungsprozesse der Spermatiden, die letztenendes zu den unten angeführten Phasen- bzw. Stadieneinteilungen des Keim-epithelzyklus führten.

c. Differenzierung der Spermatiden (Spermiohistogenese)

Die Spermatiden ähneln generell zunächst den sekundären Spermatozyten, ihr Kern ist jedoch deutlich kleiner.

Die Spermatohistogenese wird grob von 4 Phasen gekennzeichnet, die Leblond und Clermont (1952 a) beschreiben:

1. Golgi-Phase
2. Kappen-Phase
3. Akrosomen-Phase
4. Reifungs-Phase.

Als Endprodukt der Spermiohistogenese entsteht das befruchtungsfähige Spermium, das bei seiner Abgabe ins Tubuluslumen einen Kopf, einen Hals, ein Mittelstück sowie ein Flagellum besitzt. Der Kopf besteht aus einem Akrosom mit subakrosomalem Spalt, dem Kern mit Kernvakuolen und einem perinukleären Raum.

Der Hals wird aus dem proximalen Zentriol und der Basalplatte gebildet.

Das Mittelstück schließlich besitzt als auffälligstes Merkmal eine von Mitochondrien gebildete Manschette, darunter eine Lage äußerer Fasern und im Zentrum den axonemalen Komplex.

Der Schwanz wird vom distalen Zentriol ausgehend als Flagellum mit 9 äußeren Doppelfibrillen und 2 zentralen Fibrillen gebildet.

Fawcett et al. (1970) beschreiben Herkunft und Feinstruktur eines sogenannten Chromatoid-Körpers, der eine Rolle im Verlaufe der Spermiohistogenese spielt. Er wird erstmals bei Spermatozyten des späten Pachytäns sichtbar und stammt offenbar vom "Interstitium" der Mitochondrien ab, das in dieser Phase jeweils ca. 3-12 Mitochondrien zusammenkittet. Leblond und Clermont (1952 b) sehen seine Funktion im Umschließen der Basis des Flagellums, Tobias (1957) erkennt in ihm die Grundlage zum Verbindungsstück.

Der ca. 1-2 μm im Durchmesser messende Chromatoid-Körper ist bei Spermatiden der frühen Golgi- und Kappen-Phase nahe des Akrosomenvesikels und des benachbarten Golgi-Feldes relativ leicht nachweisbar. Ihm ist später ein sphärischer "Satellit" angeschlossen, der in Kernnähe ab dem frühen Pachytän sichtbar ist.

Im Laufe der Differenzierungsvorgänge kommt der Chromatoid-Körper in enger Nachbarschaft des Flagellums am kaudalen Kernpol zu liegen, seine Netzstruktur läßt vermuten, daß er aus extrem dünnen Filamenten besteht. Der Satellit hingegen ist weniger dicht, inhomogen und zeigt eine lockerere Filamentstruktur. Manchmal sind Chromatoid-Körper auch bei sekundären Spermatozyten auffindbar.

Fawcett et al. (1970) beschreiben, daß trotz der Nähe des Chromatoid-Körpers zum Zellkern und obwohl die Kernmembran nahe dem Chromatoid-Körper mehr Poren aufweist als woanders, offenbar kein Stoffaustausch zwischen beiden existiert. Bei Erreichen der Implantations-Grube umgibt der Chromatoid-Körper die Ring-Zentriole, wandert dann kaudal zur Verbindung zwischen Mittel- und Hauptstück und wird dabei immer kleiner, bis er bei Erreichen der endgültigen Position schließlich ganz verschwunden ist. Das Schicksal des Satelliten ist bislang unklar.

Werner (1976) beschreibt einen Komplex multivesikulärer Körper und seine Rolle während der Spermiogenese. Seine Entwicklung und seine morphologischen Veränderungen sind im Zusammenhang mit der Streckung der Spermatiden zu sehen. Der Komplex besitzt zentral eine granuläre Masse, der von Vesikeln umgeben ist und enthält zwei Typen multivesikulärer Körper, nämlich erstens helle, relativ große, die lockere Vesikel enthalten und zweitens dunkle, kleine Körper mit dicht gelagerten Vesikeln. Der zunächst nahe dem Zentriol und dem Kern gelegene Komplex verlagert sich in Richtung Schwanz und erfährt schließlich eine Regression zum singulären multivesikulären Körper. Werner schließt aus seiner Nähe zum Zentriol auf eine Aufgabe bei der Schwanzentwicklung bzw. der Streckung.

Nicander und Plöen (1969) hatten den multivesikulären Körpern lysosomale Aufgaben zugeschrieben, speziell die intrazelluläre Verdauung von pinozytotisch aufgenommenem Material aus den Interzellularspalten.

Mollenhauer stellt 1978 bei Spermatiden von Meerschweinchen eine neue funktionelle Dimension der Akrosomenmembran fest, er weist nämlich auf Polyribosomen hin, die an der Akrosomenmembran lokalisiert sind. Damit scheint die Proteinsynthese für den akrosomalen Inhalt unter Umgehung des Golgi-Apparates möglich zu sein.

d. Zellbesonderheiten

Von vielen Autoren wurden Zellbrücken bei Spermatogonien der Typen A und B sowie bei Präleptotän-Spermatozyten 1. Ordnung und Spermatiden beschrieben (Fawcett, Susumu und Slautterback, 1959; Fawcett, 1961; Gondos und Zemianis, 1970; Dym und Fawcett, 1971; Rowley et al., 1971). Diese anfangs als unnatürlich angesehenen Verbindungen sind physiologisch, sie dienen offenbar der Synchronisation des Keimepithelzyklus, da z.B. alle über Zellbrücken miteinander verbundenen Spermatogonien gleichzeitige Teilungen erfahren. Bryan (1971) und Bryan und Woloszewick (1973) stellten Untersuchungen über vielkernige Zellen und verschiedene Zellverbindungen bei der Maus an und unterschieden schließlich folgende 4 Zellkombinationen:

- I Spermatogonien mit einem Kern einzeln,
- II Spermatogonien mit einem Kern, über Brücken verbunden,
- III Spermatogonien mit mehreren Kernen einzeln und schließlich
- IV Spermatogonien mit vielen Kernen, über Brücken verbunden.

III. Kinetik der Spermatogenese

Die Modifikation der Spermatiden zu Spermatozyten bietet sich mit ihren unterschiedlichen Erscheinungsformen an, um den Keimepithelzyklus in verschiedenen Phasen zu unterteilen, indem jeweils eine Phase einer spezifischen Spermatidenform zugeordnet wird. Zunächst sollen jedoch einige Definitionen angeführt werden.

Die Anordnung der Keimzellen ist nicht willkürlich über die Tubuli seminiferi verstreut, auch die Entwicklungsrhythmen der Keimzellen unterliegen gewissen Regelmechanismen.

So unterscheidet Leidl (1968) einen Koordinationsfaktor 1, der die gleichzeitige Teilung der Stammspermatogonien im Querschnitt des Tubuluslumens bewirkt, von einem Koordinationsfaktor 2. Dieser steuert die Spermatogenesewelle im Längsverlauf des Tubulus. Die Abkommen einer einzigen Stammspermatogonie (im synchronen Ablauf der Spermatogenese) bezeichnet Leidl als Phase und differenziert hiervon, im Gegensatz zu vielen anderen Autoren, deutlich das Stadium, das er als die Gemeinschaft aller im Tubulusquerschnitt erfaßten Populationen (von je einer Stammspermatogonie abstammend) beschreibt. Das Stadium wird vom Koordinationsfaktor 1 gesteuert. Ein Segment wird schließlich aus Phasen bzw. Stadien gleichen Entwicklungsstandes im Tubuluslängsverlauf gebildet. Es wird somit vom Koordinationsfaktor 2 gesteuert. Die Gesamtheit der Segmente bildet die Spermatogenesewelle.

Dies trifft im Prinzip für Rind, Maus und Ratte, Meerschweinchen, Kaninchen, Ziegenbock, Schafbock, Hengst, Schwein, Hund Katze und auch für Reh und Hirsch zu.

Bei Mensch und Schimpanse findet jedoch offenbar nur eine Synchronisation der Gesamtspermatogenese, nicht aber eine erkennbare Koordinierung im Querschnitt oder Längsverlauf des Tubulus statt (Leidl, 1968). Hier erscheinen nebeneinanderliegende Phasen und Stadien beliebig angeordnet. Die Frage, ob dies eine Degeneration oder eine Evolution darstellt, ist ebenso ungeklärt wie die Frage nach den biologischen Auswirkungen auf die Spermatogenese von Mensch und Schimpanse. In Anlehnung an die oben genannten Definitionen ist die Definition des Keimepithelzyklus von Berchthold(1963) verständlich, der ihn als vollständigen Ablauf einer Serie typischer Zellbilder an einer bestimmten Stelle des Tubulus bis zur nächsten gleichen Zellgemeinschaft erklärt. Er ist somit aus vielen Phasen-Bildern zusammengesetzt.

Hilscher (1974) definiert seinerseits den Keimepithelzyklus als die Gemeinschaft der Entwicklungsphasen, die eine Keimzelle durchmacht, um von einer Zellschicht des Tubulus in die nächst höhere zu gelangen und die Zyklusdauer als die Zeit, die eine Zelle dazu braucht. Zur Passage aller Zellschichten des Tubulusepithels sind also mehrere Zyklen notwendig.

Der Spermatogenesezyklus stellt nach Berchthold(1963) den Ablauf der Zellveränderungen dar, die zwischen der 1. Teilung einer Stammspermatogonie bis zur Abgabe der daraus entstandenen Spermien ins Tubuluslumen zu beobachten sind.

Eine Übersicht über die Phasen- bzw. Stadieneinteilung des Keimepithelzyklus verschiedener Tierarten bietet die folgende Tabelle:

Tierart	Anzahl der Phasen	Autoren	Jahr der Veröffentlichung
Mensch	6	Bustos-Obregon et al.	1975
		Clermont	1963 b
Bulle	5 bzw. 10	Tiba	1965
	8	Amann	1962
		Berchthold	1963
		Leidl	1968
	12	Berndston und Desjardins	1974
	15	Clermont und Leblond	1955
	16	Kramer	1960
Maus	8	Curtis	1918
	12	Oakberg	1956
Ratte	10	Brown	1885
	11	Regaud	1901
	12	v. Ebner	1888
	14	Leblond und Clermont	1952 a
Kaninchen	8	Curtis	1918
		Swierstra und Foote	1963
Schaf	8	Ortravant	1969
Eber	6	Henricson und Bäckström	1963
	8	Swierstra	1968
Meerschweinchen	12	Clermont	1960
Rhesusaffe	12	Clermont u. Leblond	1959

Die Spermiogenese hingegen wird beim

Menschen in 12 (Clermont und Leblond, 1955), bei der
Maus in 16 (Oakberg, 1956), bei der
Ratte in 19 (Leblond und Clermont, 1952 b), beim
Rind und
Schafbock in 15 (Clermont und Leblond, 1955) Stadien
unterteilt.

Die Dauer eines Keimepithelzyklus beträgt für den

Menschen	16	Tage	(Heller und Clermont, 1963; Bustos-Obregon et al., 1975),
Bullen	13.5	Tage	(Hochereau, Courot, Ortravant, 1964), die
Maus	8.63 ± 0.26	Tage	(Oakberg, 1956), die
Ratte	13	Tage	(Hilscher, 1974; Clermont und Harvey, 1965), das
Kaninchen	10.9 ± 0.1	Tage	(Swierstra und Foote, 1965; Orgebin-Crist, 1965), das
Schaf	10.5	Tage	(Hochereau, Courot, Ortravant, 1964) und den
Eber	8.5	Tage	(Swierstra, 1968).

Die Einteilung des Keimepithelzyklus nach Curtis (1918),
Roosen-Runge und Giesel (1950) sowie Ortravant (1959) hat
sich an den Veränderungen der Spermatiden orientiert und
wurde im folgenden Beispiel angewandt:

Stadium 1: Abwesenheit von Spermien im Lumen bis Sperma-
tidenverlängerung.

Stadium 2: Beginn bis Ende der Spermatidenverlängerung.

Stadium 3: Ende Spermatidenverlängerung bis Anfang 1. Rei-
feteilung.

- Stadium 4: Anfang 1. Reifeteilung bis Ende 2. Reifeteilung.
- Stadium 5: Ende 2. Reifeteilung - Spermatiden bekommen wolkiges Kern-Bild.
- Stadium 6: Staubiges Aussehen der Spermatiden-Kerne bis lumenwärtige Spermatidenwanderung.
- Stadium 7: Beginn bis Ende der lumenwärtigen Spermatidenwanderung.
- Stadium 8: Spermatozoenumlagertes Lumen bis Verschwinden der Spermatozoen.

Das gesamte Bild aller in einem Stadium sichtbaren Zellen ergibt dann die folgende Schichtung:

- Stadium 1: - A-Spermatogonien an Basalmembran mit ovalem bis rundem Kern, staubigem Chromatin und klar sichtbarer Kernmembran.
- 2 Generationen primäre Spermatozyten:
 - a) jung, nahe Basalmembran
 - b) alt, im Pachytän zwischen Basalmembran und Lumen verteilt.
 - Spermatiden mit rundem Kern, halb von Akrosom überzogen; dunkle Karyosomen.
- Stadium 2: - mehr A-Spermatogonien auf Basalmembran als in Stadium 1.
- 2 Generationen primärer Spermatozyten mit undeutlichen Kernmembranen, Chromatin ähnlich Stadium 1.

- Charakteristisch verlängerte Spermatidenkerne.

Stadium 3: - A-Spermatogonien auf Basalmembran.

- junge Spermatozyten I. Ordnung: kleine Kerne im Zygotän.
- alte Spermatozyten I. Ordnung: im Pachytän.
- verlängerte Spermatiden.

Stadium 4: - A-Spermatogonien teilen sich in A-Spermatogonien und intermediäre Spermatogonien mit ovoidem Kern, ihre Längsachse liegt parallel zur Basalmembran, im Kern Chromatin-Granula.

- junge primäre Spermatozyten mit stark anfärbbarem Kern in Pachytän-Phase.
- ältere primäre Spermatozyten im Diplotän- oder Diakinese-Stadium mit großem Kern durchlaufen die 1. Reifeteilung und bilden sekundäre Spermatozyten.
- sekundäre Spermatozyten mit kleinerem Kern von sphärischer Form mit deutlich sichtbarer Kernmembran und durch Filamente verbundene Chromatin-Körperchen.
- Spermatiden mit sphärischem Kern und deutlicher Kernmembran. Verlängerte Spermatiden der vorigen Stadien werden hier als Spermatozoen bezeichnet.

Stadium 5: - A-Spermatogonien teilen sich in intermediäre Spermatogonien, diese sich in weitere I-Spermatogonien.

- eine Generation primärer Spermatozyten, deren Chromatin sich ausbreitet und die sich von der Basalmembran entfernen.
- sphärische Spermatiden mit deutlicher Kernmembran.
- Spermatozoen nähern sich Sertoli-Zell-Fortsätzen.

Stadium 6: - A- und I-Spermatogonien an Basalmembran, I-Spermatogonien teilen sich gegen Ende des Stadiums in B-Spermatogonien mit sphärischem Kern, dunklen Chromatin-Granula.

- primäre Spermatozyten mit angewachsenen Kernen.
- Spermatiden-Kerne sind sphärisch und bilden Kontakt zu Sertoli-Zellen.

Stadium 7: - viele B-Spermatogonien auf Basalmembran sichtbar.

- primäre Spermatozyten mit großem Pachytän-Kern und dichtem Chromatin-Netzwerk.
- sphärische Spermatiden-Kerne mit sichtbarer Kernmembran, bei PAS-Färbung ist Akrosom zu erkennen, das ein Drittel des Kernes bedeckt.
- Die Spermatozoen bewegen sich auf das Lumen zu.

Stadium 8: - B-Spermatogonien teilen sich in primäre Spermatozyten mit kleinerem, schwächer anfärbbarem Kern und undeutlicher Kernmembran.

- alte primäre Spermatozyten mit Pachytän-Kernen.

- unveränderte Spermatiden.
- Spermatozoen umgeben das gesamte Tubuluslumen.

Kramer (1960) ordnet mit Hilfe der Stadieneinteilung die Spermiohistogenese ein. So ergibt sich am Beispiel des Bullen das folgende Bild:

Golgi-Phase (Stadien 1-3): Proakrosomengranula verschmelzen zum Akrosomengranulum nahe an der Kernmembran.

Kappen-Phase (Stadien 4-6): Akrosomengranulum bildet Spermienkopf-Kappe, Akrosomen-Vakuole (Idiosom) verschwindet.

Akrosomen-Phase (Stadien 7-10): Das Akrosom springt leicht hervor, alle Akrosomen sind auf Basalmembran zugerichtet.

Reifungs-Phase (Stadien 11-16): Spermiohistogenese zu Spermatozoen, das Akrosom überzieht schließlich die vordere Kopfhälfte, die Färbbarkeit der Kopfkappe nimmt ab.

Der Beginn der Phasen- bzw. Stadieneinteilung ist dem Autoren überlassen, denn welches Stadium als 1 definiert wird, ist grundsätzlich willkürlich.

Als Phase 1 wurde das Abstoßen der reifen Spermien ins Tubuluslumen von Ortravant (1959), Kramer (1960), Amann (1962), Henricson und Bäckström (1963) und Swierstra (1968) bezeichnet.

Leblond und Clermont (1952 a) und Berchthold (1963) bezeichneten den Zeitpunkt als Phase 1, an dem nach der 1. Reifeteilung neue Spermatiden gebildet sind.

Wie bereits oben aufgeführt, ist der Zyklus des Keimepithels von dem Spermatogenesezyklus zu unterscheiden. Die Untersuchungen einiger Autoren ergaben, daß die Anzahl der Zyklen des Keimepithels zwischen der Teilung einer A-Spermatogonie und der Abgabe von ihr abstammender Spermien ins Tubuluslumen tierartlich variiert:

- | | |
|------------------------------------|---------------------------------|
| 4 Keimepithelzyklen sind bei Ratte | (Clermont und Leblond, 1953 a), |
| | Maus (Oakberg, 1956), |
| | Schaf (Ortravant, 1959), |
| | Bulle (Ortravant, 1959), |
| 6 Keimepithelzyklen beim Affen | (Clermont und Leblond, 1959) |

für einen Spermatogenesezyklus beschrieben worden.

Desgleichen ergeben sich durch den spezifischen Teilungsmodus der jeweiligen Tierart auch Variationen in der Anzahl der primären Spermatozyten, die aus einer Stammzelle stammen.

Es sind 24 bei der Ratte (Clermont und Leblond, 1953) und dem Hamster (Clermont, 1954), 16 beim Schafbock (Ortravant, 1954) und Rind (Orgebin, Courot und Ortravant, 1958) sowie beim Kaninchen (Swierstra und Foote, 1963), 8 beim Menschen (Clermont, 1963 a) und Affen (Clermont und Leblond, 1959) und schließlich 4 beim Erpel (Clermont, 1958).

Demnach stammen von einem primären Spermatozyten, z.B. beim

Kaninchen, nur 3,1 Spermatiden ab. Dies erklären Swierstra et al. (1963) mit der hohen Degenerationsrate der Spermiogenesezellen im Verlaufe der 2. Reifeteilung. Roosen-Runge stellte 1955 (bei der Ratte) fest, daß ca. 22 % weniger Spermatiden pro Präleptotän-Spermatozyt entstehen, als errechnet (wenn 1 Spermatozyt 4 Spermatiden hervorbringt) und daß nur 52 % der errechneten Spermatozyten pro A-Spermatogonie produziert werden. Die 48 % Verluste teilen sich nach Clermont (1966) in 10.6 % Spermatogonien, 27.4 % Spermatozyten und 10 % Spermatiden.

IV. Hormonelle Steuerung des Keimepithelzyklus

Die vollständige Klärung der Steuerungsvorgänge des Keimepithelzyklus steht noch aus, Leidl (1968) beschreibt einige Hypothesen und Erkenntnisse über die Regelmechanismen.

Nach Perey et al. (1961) sind die Anlagen für ein Funktionieren der Vorgänge im Keimepithel bereits embryonal festgelegt, ferner sollen über benachbarte Zellen inhibitorische und anregende Stoffe Einfluß nehmen.

Lacy (1967) nennt die Existenz eines FSH-abhängigen Sertoli-Zell-Hormons, das eine Rolle im Regelsystem des Keimepithelzyklus einnimmt.

Depopulationsversuche haben ergeben, daß eine gewisse Anzahl von Spermatogonien im Tubulus eine Voraussetzung für die Zellsynchronisation ist. Sinn der Koordination scheint erstens die Intensivierung der Nutzung des Tubulusinnenraumes zu sein (was, wie das Beispiel des Menschen zeigt, nicht zwingend notwendig ist) und zweitens gewährleistet sie ein ständig gleiches Angebot an reifen Spermien.

Die Gonaden werden über neuroendokrine Reflexe gesteuert, wozu die Hormone der Hypophyse notwendig sind. Die gonadotropen Hormone der männlichen Tiere sind das FSH und das LH. Beide steuern mit den Androgenen die Hodenentwicklung und -funktion. LH wirkt über die Leydig-Zellen stimulierend auf die Androgenproduktion. FSH steuert die Hodenfunktion offenbar nicht direkt (Clermont und Harvey, 1967), steigert aber die Wirkung von LH (Woods und Simpson, 1961). Turner (1966) stellte fest, daß mit gereinigtem LH die

Spermiogenese nur kurze Zeit aufrechterhalten werden kann, die Kombination FSH / LH ist jedoch in der Lage, eine Dauerwirkung zu erzielen.

Murphy (1965) stellt überdies die These auf, daß FSH eine Sertoli-Zell-Hypersekretion hervorruft.

Nach Lostroh (1976) wird die Wirkungsart von FSH vom Alter des Individuums, der Hormon- (bzw. LH-)Anwesenheit und der Menge des abgegebenen Hormons bestimmt. FSH bewirkt, seinen Untersuchungen zufolge, durch die Stimulierung der Sertoli-Zell-Sekretion eine vollständige Spermatogenese. Hierbei ist jedoch die Wirkung auf eine etwaige Steroidhormon-Bildung fraglich. Ferner programmiert FSH die Zelle, damit diese auf Gonadotropine antwortet. Nach Angaben von Lostroh sind die Spermatogonien hormonunabhängig, FSH steigert jedoch die Lebensfähigkeit der primären Spermatozyten.

Testosteron ist nach Lostroh (1976) das einzige Hormon, das für den Schritt vom primären Spermatozyten der Prophase über die Metaphase zum Spermatiden nötig ist, außerdem ist es zur Bildung von Spermatozoen essentiell. Er betont allgemein, daß die Androgene zur völligen Spermatiden-Reifung notwendig sind und stellt ferner fest, daß Testosteron ohne Gonadotropine allein keine Keimzellenentwicklung bewirken kann. Testosteron verbessert mit dem Wachstumshormon gemeinsam die Körper- und Hodenfunktionen.

Eine gewisse, jedoch nicht alleinige Rolle für die Hypophysenfunktion spielt das periphere Nervensystem (Davidson, 1966), es scheint jedoch für die Hodenfunktion nicht essentiell zu sein (Turner, 1966). Im Experiment konnte Schefels (1965) ferner nachweisen, daß Sympatho- und Parasympathomimetika keine Wirkung auf die Hodenfunktion her-

vorrufen, die hier angelegten Nervenfasern dienen ausschließlich der Vasomotorik.

Insgesamt scheinen Hormone die Spermatogenese, speziell die Spermatogonienvermehrung, die Reduktionsteilung der Spermatozyten und die Transformation der Spermatiden, durch die Schaffung eines geeigneten Milieus zu beeinflussen.

B. Keimzellen des Samenepithels beim Pferd

Über Untersuchungen des Keimepithels beim Hengst existieren, wie eingangs bereits erwähnt, nur wenige Arbeiten.

Eine im Jahre 1974 von Swierstra et al. durchgeführte lichtmikroskopische Untersuchung des Keimepithelzyklus beim Pferd befaßt sich weniger mit der morphologischen Differenzierung der Keimzellen als mit dem zeitlichen Ablauf und quantitativen Aspekten.

Der Keimepithelzyklus wird von den genannten Autoren in Anlehnung an Roosen-Runge und Giesel (1950), Swierstra (1968) und Ortravant, Courot und Hochereau (1969), die Untersuchungen an anderen Tierarten vornahmen, in acht Stadien unterteilt. Kriterien der Stadiendifferenzierung stellen vornehmlich die lichteistologischen Erscheinungsbilder primärer Spermatozyten in der Meiose sowie Form- und Lageveränderungen der Spermatiden dar.

Swierstra et al. (1974) bezeichnen als Stadium 1 den Zeitraum zwischen dem Verschwinden reifer luminaler Spermatiden und der Verlängerung der Kerne nachfolgender Spermatiden.

Die durchschnittliche Häufigkeit der Stadien wird von den Autoren wie folgt angegeben (%):

St. 1	16.9 %
St. 2	14.9 %
St. 3	3.2 %
St. 4	15.8 %
St. 5	7.4 %
St. 6	13.5 %
St. 7	12.6 %
St. 8	15.7 %

Die Dauer eines Zyklus des Keimepithels wird mit 12.2 Tagen angegeben, die Lebensdauer der einzelnen Keimzellen beträgt bei primären Spermatozyten 19, bei sekundären Spermatozyten 0.7, bei Spermatiden mit rundem Kern 8.7 und mit länglichem Kern 10.1 Tage.

Die Stadien 1 - 8 dauern 2.1, 1.8, 0.4, 1.9, 0.9, 1.6, 1.5 und 1.9 Tage. Zur vollständigen Spermatogenese werden 4 Zyklen benötigt, die Zeit für die gesamte Spermatogenese beträgt also ca. 49 Tage.

Lichthistologische Beobachtungen der Keimzellen ergeben, daß die Kerne der primären Spermatozyten ihr Volumen zwischen dem Präleptotän und dem Diplotän vergrößern; die runden Kerne von Spermatiden wachsen unmittelbar nach ihrer Bildung im Stadium 4 stark an und verändern sich bis zu ihrer Verlängerung kaum.

Auffallend ist ferner, daß in den Hoden im September getöteter Hengste 12.5 % mehr primäre Spermatozyten als in denen der im Dezember getöteten Gruppe gefunden werden (4.5 zu 4.0 %).

In einer weiteren Arbeit aus dem Jahre 1979 beschäftigten sich Bielański und Kaczmarek mit der Feinstruktur der Spermatozoen des Hengstes anhand elektronenmikroskopischer Untersuchungen. Wie bei den anderen Tierarten läßt sich auch das Spermium des Pferdes in einen Kopf, den Nacken, das Mittelstück, das Hauptstück und das Endstück unterteilen.

Die im weiteren genannten Details der unterschiedlichen Spermienabschnitte entsprechen im wesentlichen denen bei Spermien anderer Tierarten.

Aussagen über ihre Entwicklungsvorstufen werden, wie auch Angaben über die Form der Spermien vor der Passage durch

den Nebenhoden, nicht gemacht.

Daher soll in der vorliegenden Arbeit der Versuch einer detaillierten, kontinuierlichen Darstellung des Keim-epithels beim Pferd unternommen werden.

M A T E R I A L U N D M E T H O D E N

Zur Gewinnung von Gewebeproben wurden die Hoden von 8 geschlechtsreifen, klinisch gesunden Hengsten unterschiedlicher Pferderassen verwendet. Alle Tiere standen in den Monaten Januar bis Juli zur Kastration an.

Zur Vorfixation wurden die Hoden unmittelbar nach der Kastration mit 2 %iger Glutaraldehyd-Lösung (0.1 mol Na-Cacodylat-Puffer, pH 7.2, 310 mOsmol, 4°C) über die Arteria testicularis perfundiert.

Nach 2 Stunden wurden aus unterschiedlichen Lokalisationen Gewebeblöcke von ca. 1 mm³ Größe entnommen und über weitere 4 Stunden in 6 %iger Glutaraldehyd-Lösung (pH 7.2, 310 mOsmol, 4°C) durch Immersion nachfixiert.

Anschließend wurden die Proben für den Zeitraum von mindestens 24 Stunden in 0.1 mol Na-Cacodylat-Puffer (pH 7.2, 310 mOsmol, 4°C) gelagert und über 3 Stunden mit 1 %igem Osmium(VIII)-oxid (Merck) kontrastiert. Die Gewebeblöcke wurden dann in einer aufsteigenden Acetonreihe entwässert und in Araldit eingebettet.

Um sie zunächst lichtmikroskopisch auf ihre Zugehörigkeit zu den einzelnen Phasen des Keimepithelzyklus untersuchen zu können, wurden von allen Gewebeproben Semidünnschnitte angefertigt und diese mit Methylenblau gefärbt.

Aus den geeigneten Blöcken wurden im weiteren von ausgewählten Tubuluslumina Ultradünnschnitte auf einem

LBK-Ultratom III, Typ 8801 A mit Glasmessern angefertigt und anschließend in einem elektronisch gesteuerten Kontrastiergerät LKB 2168 "Ultrastainer" mit 2 %igem Uranylacetat und Bleizitrat nachkontrastiert.

Die elektronenoptische Auswertung und Anfertigung von Fotografien erfolgte an einem Elektronenmikroskop Em 101 (Siemens).

Die morphometrischen Untersuchungen repräsentativer Zellstrukturen und die Berechnung arithmetischer Mittelwerte wurden anhand der erstellten Fotografien an einem Morphomat 30 (Zeiss) vorgenommen.

B E F U N D E

A) Ultrastrukturelle Befunde zur Spermatogenese

I. Spermatogonien

Bei der Befunderhebung an Schnitten aller 8 Phasen des Keimepithelzyklus konnten im wesentlichen 3 Spermatogonien unterschiedlicher Konfiguration differenziert werden. Da zwischen diesen Erscheinungsformen fließende Übergänge beobachtet werden konnten, war eine eindeutige Zuordnung zu A- bzw. B-Spermatogonien nicht möglich. Im folgenden wurde daher auf eine Typisierung verzichtet.

Die erste beobachtete Spermatogonienart zeigt Abb. 1a(Sp). Ihre Größe beträgt durchschnittlich $8.08 \times 7.6 \mu\text{m}$. Bei insgesamt kugelig bis hochoval zur Basalmembran (Abb. 1a, Bm) orientierter Form liegt die Zelle eingebettet in primäre Spermatozyten und Sertoli-Zellen (Abb. 1a, Sz I, SZ), bisweilen stülpen sich beulenartige Anteile der Basalmembran in ihr Zytoplasma vor.

Nicht selten können neben desmosomalen Verbindungen auch Zellbrücken zu umgebenden Zellen beobachtet werden (Abb. 1a, D, Zb).

Der ebenfalls kugelige bis leicht hochovale Zellkern liegt in der Regel im Zentrum der Spermatogonie, erreicht eine durchschnittliche Größe von ca. $6.8 \times 5.8 \mu\text{m}$ und füllt die Zelle damit weitgehend aus (Abb. 1a, N).

Die Stärke des ihn umgebenden Zytoplasmasaumes variiert zwischen $2.3 \mu\text{m}$ und $0.28 \mu\text{m}$.

Die Kernmembran ist von einzelnen regellos verteilten Poren unterbrochen (Abb. 1a, $\leftarrow$).

Die im Durchmesser bis zu $1.03 \mu\text{m}$ großen, kugeligen bis streifigen Heterochromatinformationen (Abb. 1a, Hc), die ca. 4.8 % des Kernchromatins darstellen, befinden sich zur einen Hälfte in der Nachbarschaft des Nucleolus (Abb. 1a, Nl) und zur anderen Hälfte entweder an oder nahe der inneren Kernmembran. Das Euchromatin (ca. 93 % des Kernchromatins) liegt in wolzig-flockigen Inseln gleichmäßig verteilt im Kern (Abb. 1a, Ec). Der leicht exzentrisch orientierte, im Durchmesser ca. $1.27 \mu\text{m}$ große, scharf vom Kernchromatin abgehobene Nucleolus besteht aus einer elektronenoptisch weitgehend dunklen, netzartigen Pars fibrosa, die eine im Durchmesser ca. $0.24 \mu\text{m}$ große, schwach abgehobene Pars amorpha umschließt.

Das Zytoplasma der A-Spermatogonie entspricht in seiner Dichte etwa dem der Sertoli-Zellen und weicht damit geringfügig von der elektronenoptisch dunkleren Grundsubstanz der primären Spermatozyten ab. Es ist insgesamt feinflockig und enthält relativ wenig Organellen.

Die locker und regellos im Zytoplasma liegenden Mitochondrien (Abb. 1a, M) vom Cristae-Typ sind vorwiegend rund bis ovoid und erreichen eine Größe von ca. $0.5 \times 0.36 \mu\text{m}$. Stellenweise sind sie zu kleineren, von elektronendichter intermitochondrialer Zwischensubstanz verbundenen Gruppen zusammengeschlossen.

Das aus dicht übereinander liegenden, kleinen rundlichen bis länglichen Vakuolen bestehende Golgi-Feld ist in der Regel seitlich des Zellkernes angesiedelt und erreicht eine Ausdehnung von ca. $0.9 \times 0.55 \mu\text{m}$.

Gleichmäßig im Zytoplasma der Spermatogonie verteilt liegt das wenige, dem granulären Typ zuzuordnende endoplasmatische Retikulum (Abb. 1a, ER) in mit wenigen Ribosomen besetzten tubulären Abschnitten. Daneben sind erhebliche Mengen teils zu Rosettenformation zusammengeschlossener Polyribosomen frei im Zytoplasma nachweisbar (Abb. 1a, R).

Ein zweiter beobachteter Spermatogonientyp weicht schon in seiner Ausdehnung und Orientierung entlang der Basalmembran von der vorher beschriebenen Zelle ab (Abb. 1b).

Der ovale bis polygonale Zelleib liegt mit seiner Längsseite der Basalmembran an, die sich auch hier mit kleinen zapfenförmigen Ausstülpungen ins Zytoplasma vorwölbt (Abb. 1b $\leftarrow$).

Der mit $7.9 \times 6.4 \mu\text{m}$ Größe deutlich größere, ebenfalls leicht querovale Kern (Abb. 1b, N) liegt im Zentrum der Zelle und verdrängt das Zytoplasma in Richtung Basalmembran und Tubuluslumen auf eine Stärke von $0.2 \mu\text{m}$. Er ist von einer an wenigen Stellen durch Poren unterbrochenen, leicht gewellten Kernmembran umgeben.

Sein Heterochromatingehalt (Abb. 1b, Hc) entspricht in Menge und Form etwa dem der vorher beschriebenen Spermatogonie, es liegt jedoch zumeist gleichmäßig im Inneren des Kernes verteilt und zum Teil der inneren Kernmembran an, eine Kondensation in der Nähe des Nucleolus ist nicht augenfällig.

Der im Durchmesser ca. $1.47 \mu\text{m}$ große, stark exzentrisch liegende, nahezu kreisrunde Nucleolus (Abb. 1b, Nl) weist eine insgesamt dichter formierte Pars fibrosa mit zentraler, leicht abgehobener Pars amorpha von $0.4 \mu\text{m}$ Durchmesser auf.

Das Zytoplasma der Spermatogonie ist erheblich organellenreicher als das der vorher beschriebenen Spermatogonie. Augenfällig ist vor allem die Zunahme an Mitochondrien, die vorwiegend seitlich des Zellkernes lokalisiert sind (Abb. 1b M). Sie sind ebenfalls rund bis längsoval und gehören dem Cristae-Typ an.

Form und Lage des Golli-Feldes unterscheiden sich nicht von den Verhältnissen der vorher beschriebenen Zelle. Das granuläre endoplasmatische Retikulum, das in bis zu $1.96 \mu\text{m}$ langen, vorwiegend parallel zur äußeren Kernmembran angeordneten, strang- bis netzförmigen Strukturen vorliegt, ist nur schwach mit Ribosomen besetzt, insgesamt jedoch etwas zahlreicher als in der zuerst beschriebenen Spermatogonie (Abb. 1b, ER). Wieder sind gleichmäßig im Zytoplasma verteilte Mono- und Polyribosomen in großer Zahl nachweisbar.

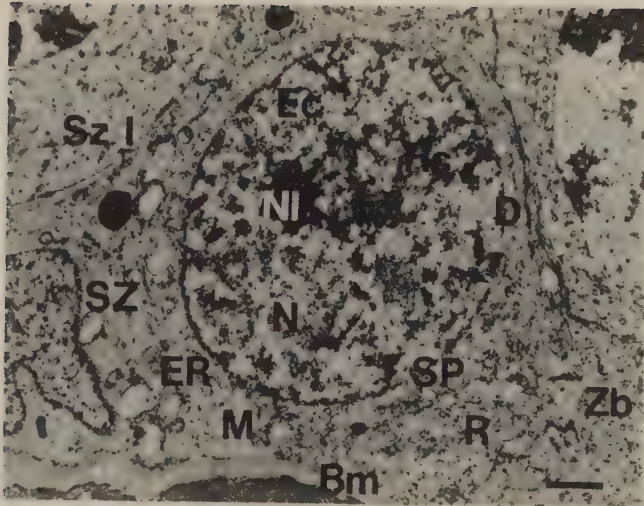


Abb. 1a: Ultrastruktur einer Spermatogonie
(Erstes Erscheinungsbild)

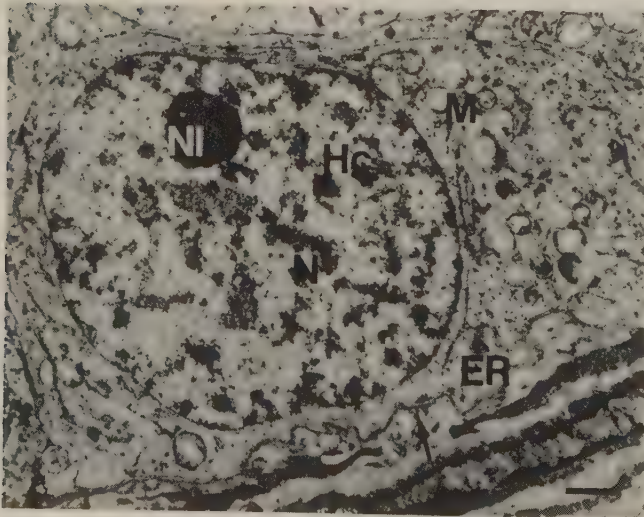


Abb. 1b: Ultrastruktur einer Spermatogonie
(Zweites Erscheinungsbild)

Bei einem dritten beobachteten Spermatogonientyp handelt es sich um eine nahezu kugelförmige Zelle von ca. $8.75\mu\text{m}$ Durchmesser (Abb. 2).

Ihr kreisrunder, mit $7.21\mu\text{m}$ im Durchmesser auffallend großer Kern (Abb. 2, N) liegt zentral und ist von einer leicht gewellt verlaufenden Membran eingehüllt. Mit einem Anteil von ca. 16 % am Gesamtkernplasma ist der Gehalt an Heterochromatin (Abb. 2, Hc) deutlich höher als bei den bisher beschriebenen Spermatogonien. Es liegt in mäßig elektronendichten Flocken im Kernplasma und an der Kernmembran verteilt, eine gewisse Verdichtung in Nucleolusnähe fällt auf. Der Nucleolus entspricht mit einem Durchmesser von durchschnittlich $1.3\mu\text{m}$ in Größe und Struktur weitgehend dem zuerst beschriebenen Spermatogonientyp (Abb. 2, Nl).

Im insgesamt elektronenoptisch relativ dichten Zytoplasma fällt im Vergleich zu den vorher beschriebenen Zellen vornehmlich die Konzentration der häufig gruppenartig angeordneten und z.T. durch Kittsubstanz (Abb. 2, iZ) verbundenen Mitochondrien seitlich des Zellkernes auf (Abb. 2, M).

Das Golgi-Feld erfährt eine Größenzunahme auf ca. $1.62 \times 1.1\mu\text{m}$ und ist seitlich des Kernes angesiedelt (Abb. 2, G).

Auch das wiederum rauhe endoplasmatische Retikulum ist geringfügig vermehrt, seine Anteile erreichen eine Länge von bis zu $3.54\mu\text{m}$ (Abb. 2, ER). Wie bereits bei den vorangegangenen Zelltypen beschrieben, ist der Ribosomenbesatz des endoplasmatischen Retikulums eher spärlich, sie liegen zumeist einzeln oder in kleineren Gruppen frei im Zytoplasma.

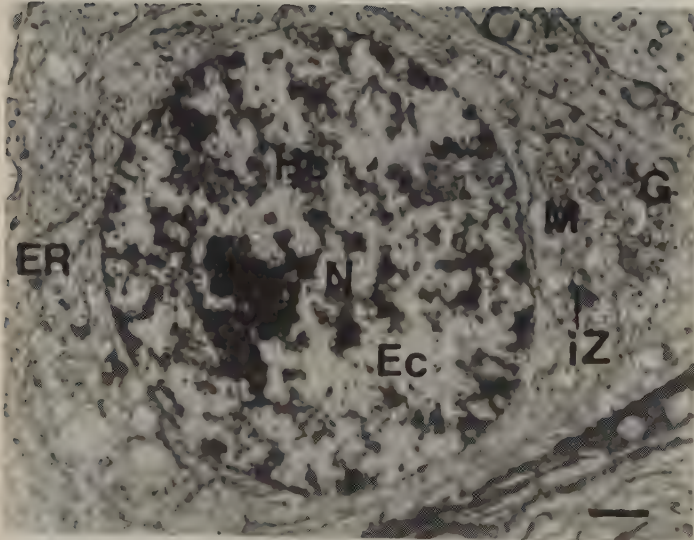


Abb. 2: Ultrastruktur einer Spermatogonie
(Drittes Erscheinungsbild)

II. Primäre Spermatozyten

Primäre Spermatozyten im Leptotän finden sich vorwiegend in den Phasen 2 und 3 des Keimepithelzyklus (Abb. 3a).

Sie erreichen eine durchschnittliche Gesamtgröße von ca. $10.7 \times 12.5 \mu\text{m}$ und sind rundlich bis polygonal konfiguriert. Zahlreiche desmosomale Verbindungen, jedoch auch Zellbrücken zu einem oder mehreren angrenzenden Spermatozyten, können beobachtet werden.

Der ovoide, meist zentral gelegene Zellkern (Abb. 3a, N) von $8.5 \times 6.87 \mu\text{m}$ Größe ist von einer sanft gewellten, von wenigen Poren unterbrochenen Membran (Abb. 3a, Km) umhüllt. Ca. 12 % des Kernplasmas werden von Heterochromatininseln gebildet, die zum überwiegenden Teil gleichmäßig verteilt der inneren Kernmembran anliegen und die seitlich bis zu $0.64 \mu\text{m}$ lange Ausläufer entlassen. Nur vereinzelt treten locker im Euchromatin liegende Verbände auf (Abb. 3a, Hc). Die restlichen 88 % werden vollständig von Euchromatin ausgefüllt, ein Nucleolus ist nicht immer nachweisbar. Das Zytoplasma der Spermatozyten im Leptotän enthält eine mäßige Organellendichte.

Wieder treten vorwiegend rundliche bis ovoide Mitochondrien vom Cristae-Typ in Erscheinung, ihre Anzahl ist jedoch relativ gering. Sie liegen meist einzeln regellos im Zytoplasma verteilt (Abb. 3a, M).

Das elektronenoptisch dunkle, ca. $1.26 \times 0.68 \mu\text{m}$ große Golgi-Feld mit seinen Membran-Stapeln und Vesikeln befindet sich seitlich des Kernes in der Nähe der äußeren Kernmembran (Abb. 3a, G).

Auffällig ist die verglichen mit den vorher beschriebenen

Zellen deutliche Mengen- und Größenzunahme des endoplasmatischen Retikulums. Seine teils schlauchförmigen, teils netzartigen Anteile erreichen eine Länge von bis zu 14.5 μm . Sie liegen teilweise parallel zur Kernmembran vor, umspannen vereinzelt den halben Kernumfang und kommen zum Teil in Stapeln mehrerer parallel orientierter Schläuche vor (Abb. 3a ER).

Der Ribosomenbesatz des ERs ist wiederum spärlich, auch die Menge frei im Zytoplasma liegender Mono- und Polyribosomen ist geringer, als bei den beschriebenen Spermatogonien beobachtet werden konnte.

Häufig sind stäbchenförmige, bis zu 0.67 μm lange Lysosomen mit sehr elektronendichtem Inhalt anzutreffen, die unregelmäßig im Zytoplasma verteilt und von einer Doppelmembran umhüllt sind. Der Spaltraum zwischen diesen beiden Membranen ist mit lockerem, feingranulärem Material angefüllt (Abb. 3a, L).

Erstmals im Verlauf der Spermatogenese ist eine unregelmäßig gelappte, elektronenoptisch dunkle Formation, der Chromatoid-Körper, im Zytoplasma sichtbar (Abb. 3a, CK).

Darüber hinaus zeigen einige Spermatozytenanschnitte relativ elektronendichte, kurz tubuläre myelinartige Strukturen, die leicht gebogen in kleineren Stapeln geschichtet anzutreffen sind (Abb. 3a, MS).

Primäre Spermatozyten im Zygotän sind in den Phasen 4 und 5 des Keimepithels anzutreffen (Abb. 3b).

Es handelt sich dabei um durchschnittlich $13.4 \times 9.7 \mu\text{m}$ große, elektronenoptisch mäßig kontrastierende Zellen, die oval bis polygonal geformt sind.

Ihr häufig kreisrunder, $7.7 \times 6.59 \mu\text{m}$ großer Zellkern (Abb. 3b, N) liegt leicht exzentrisch und ist von einer glatten, an wenigen Stellen von Poren (Abb. 3b $\leftarrow$) unterbrochenen Kernmembran umspannt. Sein Heterochromatingehalt (Abb. 3b, Hc) ist mit bis zu 36 % deutlich höher als im Leptotän, es ist in lockeren, zum Teil bis an die innere Kernmembran reichenden, konfluierenden Inseln gleichmäßig im Kernplasma verteilt und an wenigen Stellen zu elektronenoptisch sehr dunklen, der Kernmembran anhaftenden Strukturen kondensiert. Ein im Durchmesser ca. $0.9 \mu\text{m}$ großer, exzentrisch orientierter Nucleolus kann angetroffen werden (Abb. 3b, Nl).

Das Zytoplasma des primären Spermatozyten im Zygotän unterscheidet sich im Vergleich zum Leptotän-Spermatozyten deutlich in seinem höheren Organellengehalt.

Während die Anzahl der Mitochondrien (Abb. 3b, M), die teilweise in Gruppen angeordnet und durch elektronendichtes Material (Abb. 3b, iZ) verbunden sind, nicht wesentlich zugenommen hat, ist die Vermehrung des endoplasmatischen Retikulums augenfällig. Es ist in zueinander parallel orientierten, meist bandartigen, durchschnittlich $3.1 \mu\text{m}$ langen Strukturen rund um den Kern parallel zur äußeren Kernmembran angeordnet und wiederum nur schwach mit Ribosomen besetzt (Abb. 3b, ER).

In vielen Fällen können die schwach kontrastierenden Strukturen eines multivesikulären Körpers (Abb. 3b, MK) ange-

troffen werden. Wie schon im Leptotän fallen auch im Zytoplasma des primären Spermatozyten im Zygotän Chromatoid-Körper auf (Abb. 3b, CK).

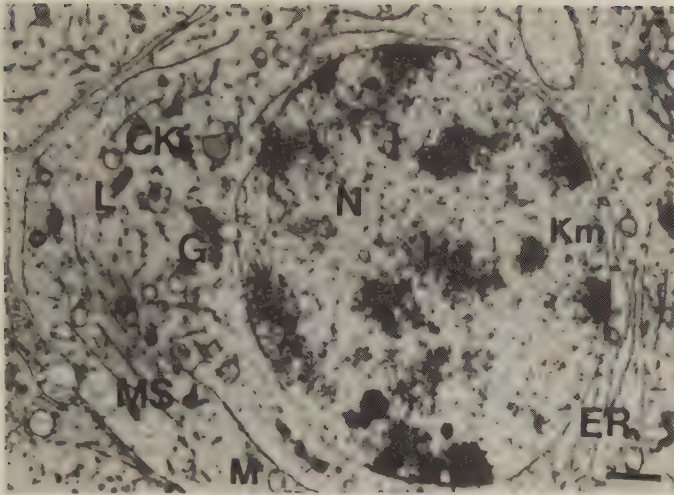


Abb. 3a: Ultrastruktur eines primären Spermatozyten
im Leptonem

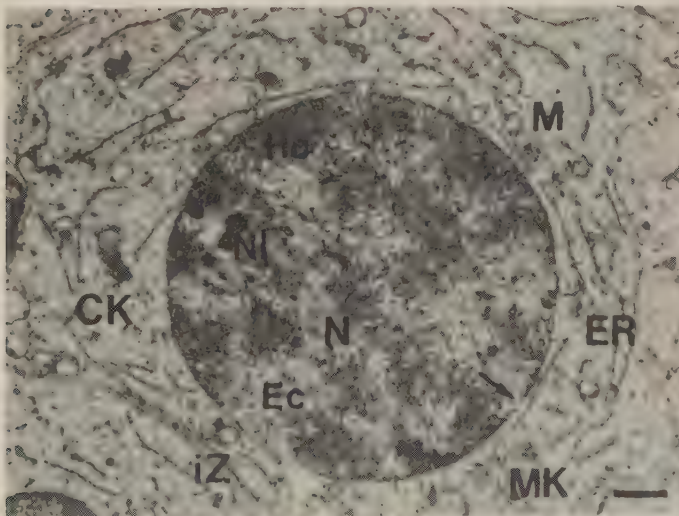


Abb. 3b: Ultrastruktur eines primären Spermatozyten
im Zygonem

Primäre Spermatozyten im frühen Pachytän finden sich in den Phasen 6 und 7 des Keimepithelzyklus (Abb. 4a).

Sie sind oval und im Durchschnitt $11.7 \times 8.5 \mu\text{m}$ groß, ihr elektronenoptisch helles Zytoplasma sticht deutlich aus dem übrigen Zellverband hervor.

Der ovale, mit einer Größe von $7.1 \times 5.9 \mu\text{m}$ relativ kleine Kern (Abb. 4a, N) ist leicht exzentrisch angeordnet und von einer abschnittsweise leicht gewellten Kernmembran umgeben, die von kleinen Poren unterbrochen wird. In einigen Fällen ist ein durchschnittlich $1.1 \mu\text{m}$ im Durchmesser großer, exzentrisch orientierter Nucleolus sichtbar.

Ca. 22 % des Kernplasmas wird von sehr elektronendichtem Heterochromatin (Abb. 4a, Hc) gebildet, das in inselartigen Zusammenballungen vorwiegend der inneren Kernmembran anhaftet und größtenteils synaptonemalen Komplexen ähnliche, aufgehellte Strukturen mit einer deutlichen zentralen Achse enthält (Abb. 4a, SK).

Das, wie oben bereits erwähnt, elektronenoptisch insgesamt helle Zytoplasma weicht besonders durch sein mit $2.5 \times 1.3 \mu\text{m}$ Größe erheblich angewachsene Golgi-Feld von den vorher beschriebenen Zellen ab (Abb. 4a, G). Es ist typisch geschichtet und verfügt über ein sehr elektronendichtes Zisternensystem sowie bis zu $0.7 \mu\text{m}$ große Vesikel. Weiterhin finden sich vereinzelt Ausbildungen eines noch undeutlich ausgeprägten multivesikulären Körpers (Abb. 4a, MK).

Die Menge und Formation der bis zu $7.3 \mu\text{m}$ langen Strukturen des rauhen endoplasmatischen Retikulums weicht nicht wesentlich vom Beschriebenen ab, sein Ribosomensatz ist jedoch dichter.

Wieder sind unregelmäßig im Zytoplasma verteilte elektronendichte Membran-Stapel (Abb. 4a, MS) erkennbar.

Primäre Spermatozyten im ausgeprägten Pachytän sind in den Phasen 8 und 1 des Keimepithelzyklus anzutreffen (Abb. 4b).

Sie unterscheiden sich mit $11.56 \times 9.12 \mu\text{m}$ in Größe und Form nicht wesentlich von den primären Spermatozyten des frühen Pachytäns.

Ihr leicht exzentrisch liegender, meist ovaler, ca. $8.5 \times 6.2 \mu\text{m}$ großer Kern (Abb. 4b, N) ist von einer leicht gewellten Kernmembran umgeben, die zuweilen unregelmäßig verteilte, deutliche Poren aufweist (Abb. 4b $\leftarrow$). Das flockige, meist in größeren Verbänden organisierte, elektronenoptisch relativ helle Heterochromatin des Kernes ist stellenweise in dichteren Herden an der inneren Kernmembran angeschmiegt und macht ca. 48 % des Kernchromatins aus (Abb. 4b, Hc).

Leicht exzentrisch lokalisiert ist der deutlich elektrodichtere, im Durchmesser ca. $1.06 \mu\text{m}$ große, runde Nucleolus (Abb. 4b, Nl).

Wie im frühen Pachytän sind wiederum deutliche synaptonemale Komplexe erkennbar, die bisweilen dem Pol trichterförmiger Einstülpungen der inneren Kernmembran aufsitzen (Abb. 4b, SK).

Die elektronenoptische Dichte des Zytoplasmas entspricht im wesentlichen der des frühen Pachytäns.

Die Mitochondrien vom Cristae-Typ kommen wiederum einzeln oder zu Gruppen vereint vor (Abb. 4b, M).

Auch eine wesentliche Veränderung des Golgi-Feldes ist nicht nachzuweisen, es erreicht eine durchschnittliche Größe von $2.65 \times 1.31 \mu\text{m}$. Die häufiger zu Netzformationen zusammengeschlossenen, im Durchschnitt $7.7 \mu\text{m}$ langen Tu-

buli des endoplasmatischen Retikulums sind dicht mit Ribosomen besetzt, gleichzeitig nimmt der Gehalt an freien Mono- oder Polyribosomen im Zytoplasma merklich ab (Abb. 4b, ER).

Sehr deutlich sichtbar treten im Pachytän ca. $0.64\ \mu\text{m}$ große, meist kreisrunde, membranbegrenzte multivesikuläre Körper auf (Abb. 4b, MK).

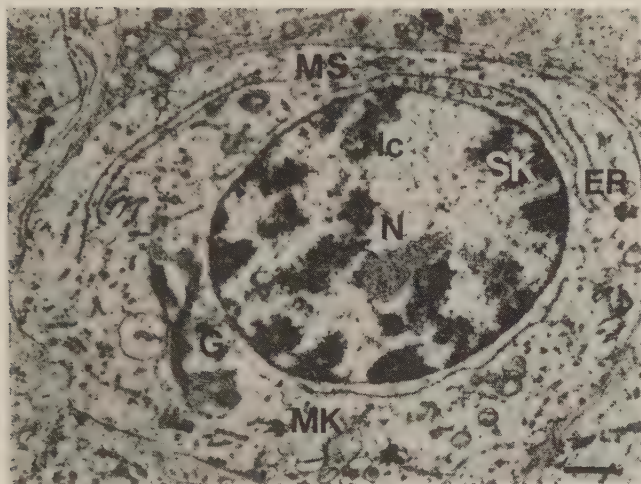


Abb. 4a: Ultrastruktur eines primären Spermatozyten im frühen Pachytän

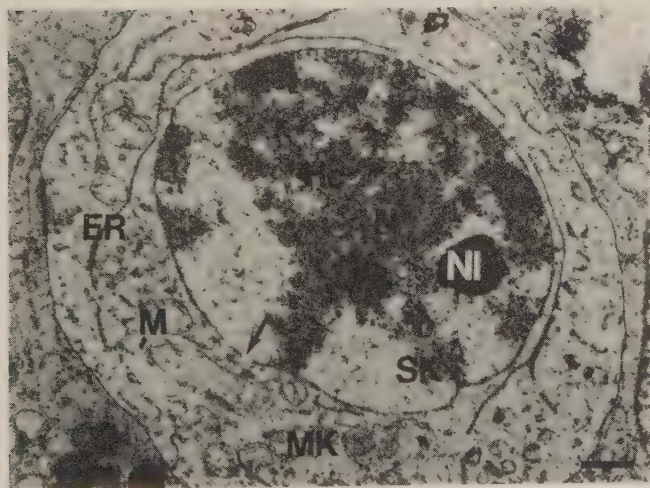


Abb. 4b: Ultrastruktur eines primären Spermatozyten im ausgeprägten Pachytän

Primäre Spermatozyten im Diplotän treten in den Phasen 2 und 3 des Keimepithelzyklus auf und haben bei einer durchschnittlichen Größe von $12.5 \times 9.16 \mu\text{m}$ eine ovale bis polygonale Form (Abb. 5a).

Ihr mit $7.5 \times 6.4 \mu\text{m}$ relativ kleiner, ovaler Kern liegt im Zentrum der Zelle (Abb. 5a, N). Er ist von einer glatt aufliegenden Kernmembran umhüllt, die von gruppenweise angeordneten, deutlichen Kernporen unterbrochen wird (Abb. 5a $\leftarrow$).

Der prozentuale Anteil des in lockeren Wolken gleichmäßig verteilten Heterochromatins am Gesamtplasma entspricht etwa dem der primären Spermatozyten im Pachytän (Abb. 5a, Hc). Wiederum sind einige elektronenoptisch dichte Heterochromatinaggregate der inneren Kernmembran zugeordnet, sie enthalten zum Teil synaptonemale Komplexe (Abb. 5a, SK). Der Euchromatingehalt stellt sich elektronenoptisch relativ dunkel dar, ein Nucleolus fehlt häufiger.

Die Zytoplasmadichte erfährt, verglichen mit Pachytän-Spermatozyten, keine wesentlichen Veränderungen, sein Organellengehalt differiert jedoch deutlich qualitativ. Während Art, Menge und Verteilungsmuster der Mitochondrien (Abb. 5a, M) unverändert sind, ist vornehmlich das mit einer Ausdehnung von $2.74 \times 1.61 \mu\text{m}$ deutlich vergrößerte, in Kernnähe befindliche Golgi-Feld bemerkenswert, das Vesikel von bis zu $0.4 \mu\text{m}$ Durchmesser enthält (Abb. 5a, G).

Auch das nun vornehmlich aus bis zu $4.6 \mu\text{m}$ langen, kurz tubulären bis säckchenförmigen Anteilen bestehende, mäßig mit Ribosomen besetzte endoplasmatische Retikulum weicht von den vorher beschriebenen Strukturen ab (Abb. 5a, ER).

Wieder fallen elektronendichte Membran-Stapel in großer Zahl ins Auge (Abb. 5a, MS).

Primäre Spermatozyten in der Diakinese kommen in der Phase 4 des Keimepithelzyklus vor (Abb. 5b).

Bei ovaler bis polygonaler Form erreichen sie eine Größe von $14.3 \times 9.79 \mu\text{m}$.

Ihr ca. $8.3 \times 6.9 \mu\text{m}$ großer, ovaler Kern liegt zentral im Zelleib, seine glatte Membran ist von wenigen, häufig dicht beieinander liegenden Kernporen durchbrochen, die zum Teil Heterochromatin enthalten (Abb. 5b, N).

Ca. 25 % des Kernplasmas werden von elektronenoptisch dunklen Heterochromatinaggregaten (Abb. 5b, Hc) besetzt, die nur zum geringen Anteil der inneren Kernmembran anliegen und ansonsten gleichmäßig verteilt vorliegen. In ihm sind häufig deutliche synaptonemale Komplexe (Abb. 5b, SK) zu erkennen, die teilweise Kontakt zur inneren Kernmembran haben.

Das Euchromatin stellt sich relativ elektronendicht dar (Abb. 5b, Ec).

Stark exzentrisch liegend kann ein undeutlich vom Heterochromatin abgehobener, ca. $1.12 \mu\text{m}$ großer Nucleolus beobachtet werden (Abb. 5b, Nl).

Die Zytoplasmadichte ist wiederum recht gering, ein mäßiger Anstieg des Mitochondriengehaltes ist nachweisbar. Sie liegen um den Kern orientiert vornehmlich durch elektronendichte Zwischensubstanz (Abb. 5b, iZ) verbunden in Gruppen, jedoch auch locker verteilt einzeln im Zytoplasma. (Abb. 5b, M).

Das Golgi-Feld, dessen Ausdehnung nunmehr auf $3.9 \times 2.8 \mu\text{m}$ angewachsen ist, liegt mit einzelnen, im Durchmesser bis zu $0.51 \mu\text{m}$ großen vesikulären Strukturen der äußeren Kernmembran an und stellt die augenfälligste Zytoplasmastruktur dar (Abb. 5b, G).

Das rauhe, locker im Zytoplasma liegende endoplasmatische Retikulum besteht zum überwiegenden Teil aus kurzen, ribosomenbesetzten Schlauchabschnitten und erreicht nur selten eine Länge von bis zu $3.9\text{ }\mu\text{m}$ (Abb. 5b, ER).

In Kernnähe sind wiederum multivesikuläre Körper von bis zu $0.84\text{ }\mu\text{m}$ Durchmesser angesiedelt (Abb. 5b, 6a, MK).

Auffällig sind daneben wiederum Chromatoid-Körper, die aus dicht zusammengedrängtem, elektronenoptisch dunklem Material bestehen und eine bis mehrere zentrale Aufhellungen beherbergen (Abb. 5b, 6a u. b, CK). Daneben kann eine lockere Zusammenballung feingranulären Materials, der sogenannte Satellit, beobachtet werden (Abb. 6a, Sat).

Auch kleinere lysosomale Strukturen (Abb. 5b, L) treten in Erscheinung, sie enthalten elektronenoptisch dunkles Material.

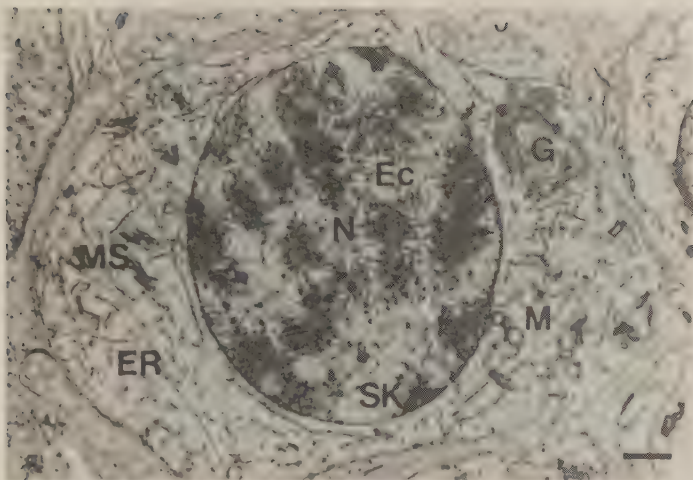


Abb. 5a: Ultrastruktur eines primären Spermatozyten im Diplotän

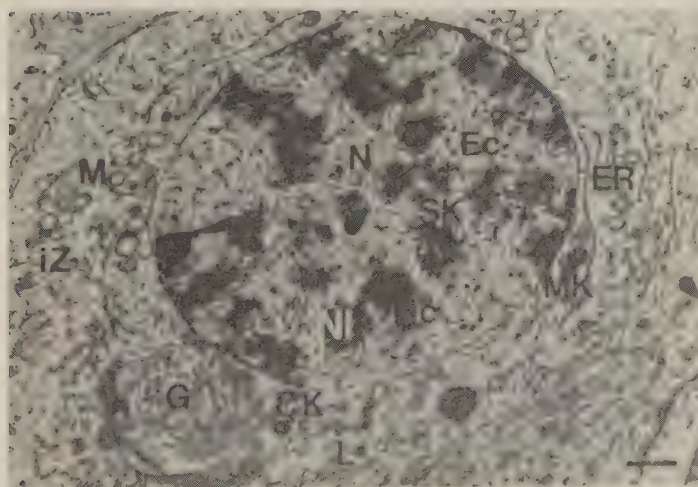


Abb. 5b: Ultrastruktur eines primären Spermatozyten in der Diakinese

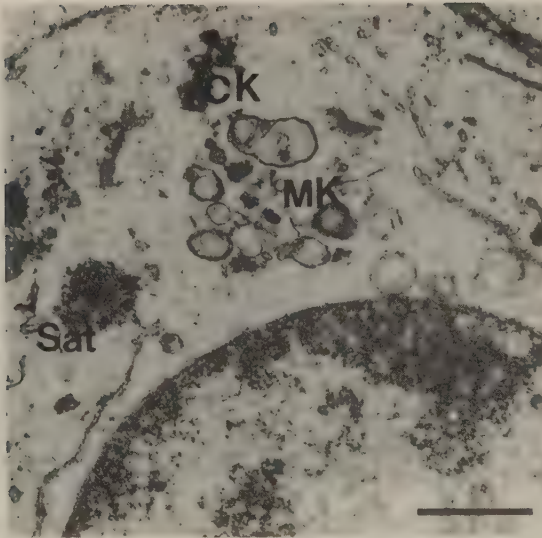


Abb. 6a: Multivesikulärer Körper, Chromatoid-Körper und Satellit in einem primären Spermatozyten in der Diakinese

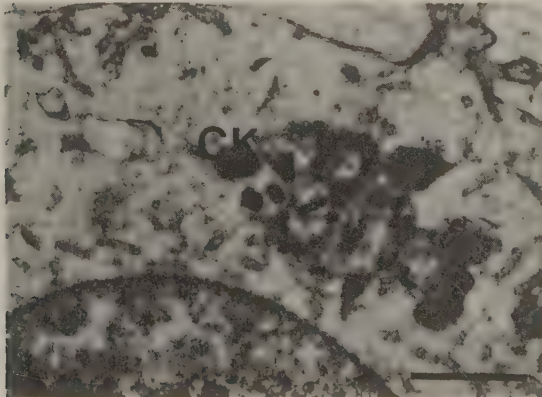


Abb. 6b: Chromatoid-Körper in einem primären Spermatozyten in der Diakinese

III. Sekundäre Spermatozyten

Auffälligste Merkmale des sekundären Spermatozyten, der in Phase 5 des Keimepithelzyklus anzutreffen ist, sind zum einen seine Größe, die mit $11.82 \times 9.9 \mu\text{m}$ deutlich unter der primärer Spermatozyten liegt und zum anderen sein dichtes Zytoplasma (Abb. 7, Sz II).

Er ist zumeist oval, an den Kontaktflächen zu benachbarten Zellen treten nicht selten neben desmosomalen Verbindungen auch Zellbrücken auf (Abb. 7, Zb).

Sein im Durchmesser $7.5 \times 6.6 \mu\text{m}$ größer und damit ebenfalls relativ kleiner, kreisrunder Kern (Abb. 7, N) liegt deutlich exzentrisch.

Er ist von einer zuweilen leicht gewellten Membran umgeben, Kernporen sind zu beobachten (Abb. 7 $\leftarrow$).

Das Heterochromatin des Kernes liegt in lockeren, relativ elektronendurchlässigen Wolken zum größten Teil der inneren Kernmembran an, es stellt ca. 26 % des Kernplasmas (Abb. 7, Hc). Gelegentlich sind synaptonemale Komplexe sichtbar (Abb. 7, SK).

Der mit einer Ausdehnung von $2.35 \times 1.23 \mu\text{m}$ sehr große Nucleolus ist deutlich exzentrisch orientiert und reicht gelegentlich bis dicht an die innere Kernmembran heran (Abb. 7, Nl).

Die schon erwähnte Dichte des Zytoplasmas kommt weniger durch die meist gruppiert angeordneten Mitochondrien mäßiger Menge, als durch die Zunahme endoplasmatisch retikulärer Strukturen zustande (Abb. 7, M, ER).

Sie setzen sich bis auf wenige, reich ribosomenbesetzte, bis $2.56 \mu\text{m}$ lange, tubuläre Strukturen in erster Linie

aus kleinen vesikulären bis schlauchartigen Partikeln zusammen. Auch sie sind dicht ribosomenbesetzt.

Das mit $3.2\text{ }\mu\text{m}$ Größe ebenfalls sehr große Golgi-Feld liegt in dichter Nachbarschaft zum Kern (Abb. 7, G).

Ein ca. $0.65\text{ }\mu\text{m}$ großer, elektronenoptisch dunkler multivesikulärer Körper (Abb. 7, MK) und in dessen unmittelbarer Nähe angesiedelte Chromatoid-Körper befinden sich ebenfalls in dichter Nachbarschaft zu Kern und Golgi-Feld.

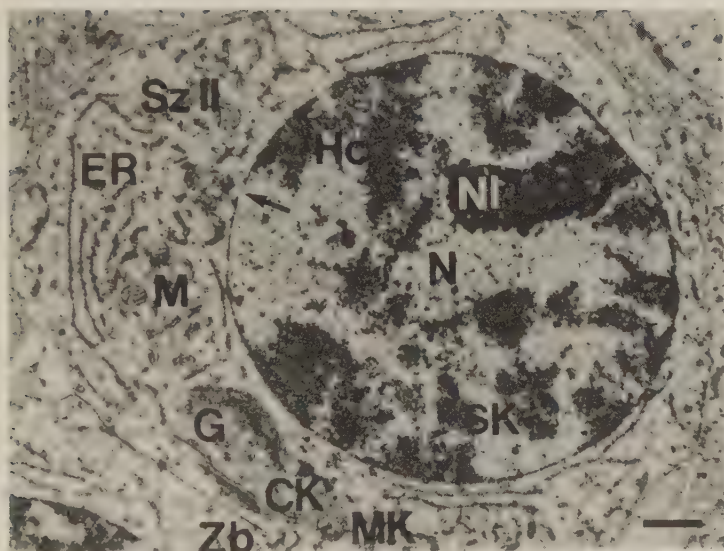


Abb. 7: Ultrastruktur eines sekundären Spermatozyten

B) Ultrastrukturelle Befunde zur Spermatohistogenese

I. Spermatiden der Golgi-Phase

Spermatiden der frühen Golgi-Phase (Initial-Phase) finden sich in der Phase 6 des Keimepithelzyklus.

Diese Spermatidenart hat eine ovale bis polygonale Grundform und wirkt insgesamt elektronenoptisch hell. Sie ist mit einer Größe von $11.5 \times 9.15 \mu\text{m}$ deutlich kleiner als ein sekundärer Spermatozyt (Abb. 8a).

Ihr zumeist kugelrunder, im Durchmesser ca. $6.2 \mu\text{m}$ großer Kern (Abb. 8a, N) liegt leicht exzentrisch im Zytoplasma. Das Kernplasma ist relativ homogen wolzig-flockig. Die wenigen Heterochromatininseln (Abb. 8a, Hc), die mit 14,5% nur einen geringen Anteil des Kernplasmas ausmachen, heben sich nur undeutlich vom Euchromatin ab (Abb. 8a, Ec).

In vielen Anschnitten sind zwei oder sogar drei, im Durchmesser ca. $1.1 \mu\text{m}$ große Nucleoli (Abb. 8a, N1) erkennbar, die gleichmäßig im Kern verteilt liegen und zuweilen Kontakt zur inneren Kernmembran aufnehmen.

Das elektronenoptisch helle, feinflockige Zytoplasma enthält einen mäßigen Gehalt an runden bis ovalen Mitochondrien (Abb. 8a, M) vom Cristae-Typ, die zum größten Teil einzeln oder gelegentlich zu kleineren Gruppen zusammenliegend seitlich des Golgi-Feldes orientiert sind. Das Golgi-Feld (Abb. 8a,b, G) unterliegt im vorliegenden Spermatiden-Entwicklungsstadium entscheidenden Umbauvorgängen.

Noch liegt es mit einer Gesamtausdehnung von $2.27 \times 1.64 \mu\text{m}$

in der Nähe, nicht aber an der äußeren Kernmembran. Es besteht aus einem System dicht gestapelter Zisternenstrukturen, die in ihrer Aufsicht halbkreisähnlich orientiert erscheinen und zum Teil säckchenförmige Anhänge an ihren seitlichen Ausläufern bilden. Der zunächst vom Spermatidenkern abgewandte Innenraum des Golgi-Feldes, den die beschriebenen Zisternenstapel umschließen, ist mit im Durchmesser bis zu $0.27\ \mu\text{m}$ großen Vesikeln angefüllt. Sie enthalten, wie auch die Zisternen, teilweise relativ elektronendichtes Material, ihre Lumina erscheinen jedoch in der größeren Zahl elektronenoptisch leer (Abb. 8b, G).

Das wenige, durchweg rauhe endoplasmatische Retikulum (Abb. 8a, ER) ist in bis zu $2.9\ \mu\text{m}$ langen tubulären Strukturen zum Teil parallel zur äußeren Kernmembran orientiert, liegt aber stellenweise auch regellos im Zytoplasma. Sein Ribosomenbesatz ist eher spärlich. Freie Mono- oder Polyribosomen sind selten zu beobachten.

Neben den beschriebenen Organellen sind in manchen Anschnitten wiederum relativ elektronendichte, teils lappige Chromatoid-Körper mit einer Ausdehnung von bis zu $1.2 \times 0.99\ \mu\text{m}$ anzutreffen (Abb. 8a, CK).

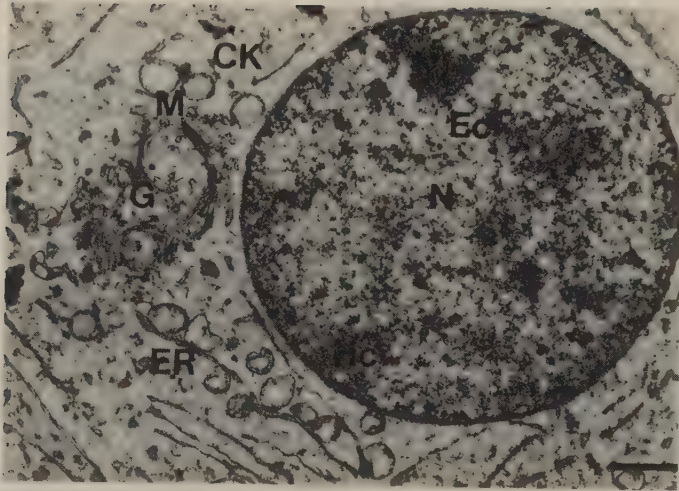


Abb. 8a: Ultrastruktur einer Spermatide in der Initial-Phase

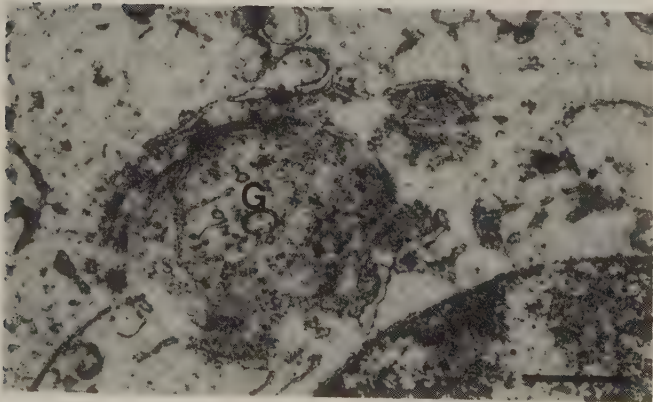


Abb. 8b: Golgi-Feld einer Spermatide in der Initial-Phase

Spermatiden der ausgeprägten und späten Golgi-Phase sind in den Phasen 7 und 8 des Keimepithelzyklus anzutreffen.

Die im Verlauf der ausgeprägten Golgi-Phase auftretenden Strukturveränderungen lassen eine klare Abgrenzung bestimmter Entwicklungsabschnitte voneinander nicht zu. Auch elektronenoptisch läßt sich nur ein fließender Fortgang beschreiben (Abb. 9a).

So weicht im Verlaufe der Golgi-Phase die Grundform der Spermatide mit einer Größe von $9.48 \times 6.71 \mu\text{m}$ nicht wesentlich von der der Initial-Phase ab und auch Größe ($5.1 \times 4.25 \mu\text{m}$) und Lage des Kernes bleiben konstant (Abb. 9a, N). Häufig ist jedoch nur ein Nucleolus zu beobachten, der exzentrisch im ansonsten relativ homogenen Kernplasma liegt (Abb. 9a, N1). Die auffälligsten Veränderungen, die der Kern zeigt, spielen sich gegenüber dem Golgi-Feld (Abb. 9a, G) ab. Hier ist eine geringgradige Verdichtung des Kernchromatins an der inneren Kernmembran erkennbar, die sich auf ca. $1.98 \mu\text{m}$ Länge erstreckt und zunächst eine Stärke von $0.04 \mu\text{m}$ aufweist (Abb. 9a und b, $\leftarrow$).

Das Zytoplasma ist ebenfalls nicht wesentlich gegenüber dem der Spermatide in der Initial-Phase verändert.

Die Mitochondrien (Abb. 9a, M) befinden sich vornehmlich in der Nähe des Golgi-Feldes, die Zahl der endoplasmatischen retikulären Strukturen bleibt konstant.

Um so auffälliger sind die Lage- und Formveränderungen des Golgi-Feldes. Es rückt bei einer Gesamtausdehnung von $2.5 \times 1.2 \mu\text{m}$ bis dicht an die äußere Kernmembran vor und entläßt elektronenoptisch helle bis leer wirkende Vesikel, die mit einem Durchmesser von $0.46 \mu\text{m}$ deutlich über den üblichen Vesikelstrukturen des Golgi-Feldes liegen (Abb. 9b, GV).

Diese großen Vesikel legen sich im Bereich der oben beschrie-

benen Kernchromatinverdichtungen der äußeren Kernmembran an, um schließlich zu konfluieren und somit eine ca. $2.19 \times 1.2 \mu\text{m}$ große, kernwärts abgeflachte Vakuole zu bilden, die nur noch von einem schmalen subakrosomalen Raum unterlagert wird (Abb. 9b, AV, saR).

Sie enthält zunächst nur wenig elektronenoptisch hellgraues, flockiges Material, mit ihrer deutlichen Ausprägung zur Akrosomen-Vakuole (Abb. 9b, AV) wird jedoch die zunächst flockige, später zunehmend kugelförmige, im Durchmesser ca. $0.39 \mu\text{m}$ große Anlage des Akrosomengranulums (Abb. 9b, AG) sichtbar, die auf der Mitte der Anlagefläche der inneren Akrosomenmembran (Abb. 9b, Ami) aufsitzt.

Auf der kernabgewandten Seite liegen der Akrosomen-Vakuole die dicht gestapelten Zisternenschichten des Golgi-Feldes auf.

Gelegentlich kann ein im Durchmesser ca. $0.5 \mu\text{m}$ großer, elektronenoptisch sehr dunkler multivesikulärer Körper in der Nähe des Golgi-Feldes beobachtet werden (Abb. 9a, MK).

Auch Strukturen eines vorwiegend lappig aussehenden Chromatoid-Körpers sind in einigen Schnitten nachweisbar. Selten findet sich seitlich des Golgi-Feldes ein Zentriol, das in der Zeitspanne zwischen Golgi- und Kappen-Phase auf die dem Akrosomengranulum gegenüberliegende Seite des Spermatidenkernes zuwandert (Abb. 9a, Z).

Zum Ende der Golgi-Phase hin buchtet sich die Akrosomen-Vakuole weit an den Seiten aus und ragt damit über die Verdichtungszone der inneren Kernmembran hinaus. Das Lumen der Vakuole flacht sich immer weiter ab und schließ-

lich liegt die äußere Vakuolenmembran als äußere Akrosomenmembran dem Akrosomengranulum auf.

Gleichzeitig kann das Abwandern des Golgi-Feldes beobachtet werden, das sich zusehends auf die dem Akrosomengranulum gegenüberliegende Seite des Kernes zubewegt.

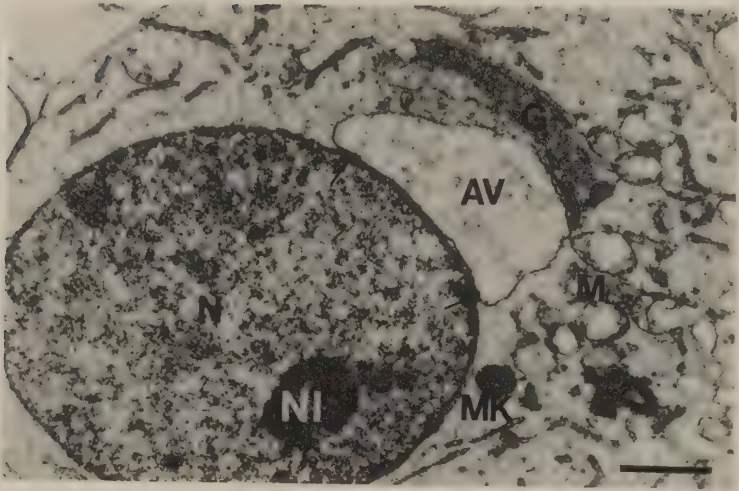


Abb. 9a: Ultrastruktur einer Spermatide in der ausgeprägten Golgi-Phase

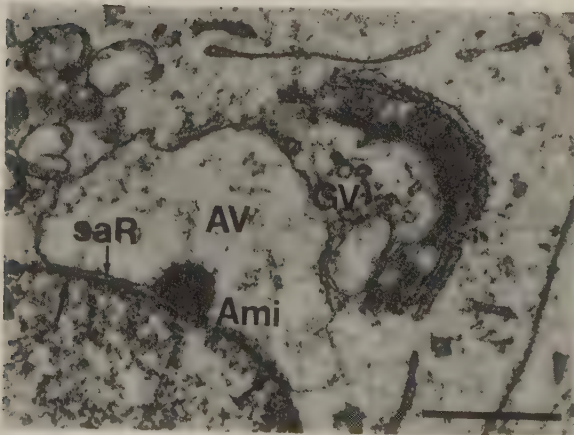


Abb. 9b: An den Kern einer Spermatide in der ausgeprägten Golgi-Phase angelegte Akrosomenvakuole mit Akrosomengranulum, daneben Golgi-Feld

II. Spermatiden der Kappen-Phase

Spermatiden der Kappen-Phase sind in der Phase 1 des Keimepithelzyklus vorzufinden (Abb. 10 a-c).

Der Zelleib nimmt eine zunehmend längsovale Form an und hat eine durchschnittliche Größe von ca. $8 \times 5.6 \mu\text{m}$. Sehr häufig können an den Kontaktstellen zu den umliegenden Spermatiden Zellbrücken (Abb. 10c, Zb) beobachtet werden, die teilweise bis zu 4 Zellen miteinander verbinden können.

Der durchschnittlich $4.9 \times 3.9 \mu\text{m}$ Zellkern (Abb. 10b,N) rückt weiter in die Peripherie des Zelleibes, wobei meist nur ein schmaler Zytoplasmasaum die äußere Kernmembran vom Plasmalemm trennt.

Wie auch in der Golgi-Phase ist der Spermatidenkern in der Kappen-Phase rund bis oval und von einer porenarmen Kernmembran umgeben.

Das elektronenoptisch grau erscheinende Heterochromatin liegt unregelmäßig geflockt im Kern vor, der Euchromatingehalt ist etwa gleich hoch (Abb. 10a-c, Hc, Ec). Häufig sind ein oder zwei Nucleoli anzutreffen, die mit einem durchschnittlichen Durchmesser von $0.56 \mu\text{m}$ wahllos im Kernplasma liegen (Abb. 10b, Nl).

In der ausgeprägten Kappen-Phase ist die Kernmembran auf der Höhe des Akrosomengranulums deutlich nach innen eingebuchtet (Abb. 10b, Km). In diese Bucht ist das im Durchmesser $0.67 \mu\text{m}$ große, aus relativ homogenem, elektronendichtem Material bestehende Akrosomengranulum eingefügt (Abb. 10b, AG).

Auf der Breite der ursprünglichen Akrosomen-Vakuole liegt nun die sogenannte Akrosomenkappe (Abb. 10b, AK) dem Spermatidenkern auf. Sie besteht aus zwei Membranen, die in ihrer Mitte das Akrosomengranulum einschließen und seitlich in ca. $0.15\text{ }\mu\text{m}$ dicken, säckchenförmigen Erweiterungen (Abb. 10b $\leftarrow$) ineinander überfließen. Seitlich des Akrosomengranulums ist elektronenoptisch relativ dunkles, feingranuläres Material zwischen den Membranen eingelagert. Ein durchschnittlich etwa $0.045\text{ }\mu\text{m}$ breiter subakrosomaler Raum hebt die gesamte Kappe mit Granulum von der äußeren Kernmembran ab (Abb. 10b, saR).

Daneben findet sich eine Membraneinbuchtung, die sogenannte Implantations-Grube (Abb. 10a u. B, IG), in der das Zentriol liegt. Es wandert im Verlauf der Kappen-Phase über die Peripherie des Zellkernes auf die dem Akrosomengranulum gegenüberliegende Seite (Abb. 10a u. b, Z).

Das Zytoplasma der Spermatide in der Kappen-Phase nimmt eine elektronenoptisch relativ hohe Dichte an, die aber weniger auf einen absoluten Zuwachs an Zellorganellen als auf eine Abnahme an Grundsubstanz und somit auf ein Zusammenrücken der Organellen zurückzuführen ist.

Diese sind vorwiegend auf den lumenwärtig gerichteten Zytoplasmaabereich der Spermatide konzentriert und weisen in Form und Menge keine auffälligen Abweichungen gegenüber den vorherigen Entwicklungsstufen auf.

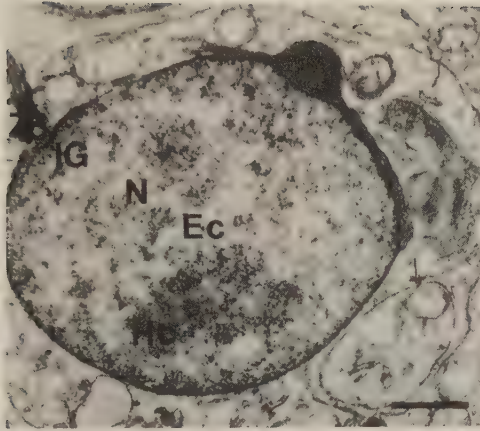


Abb. 10a: Ultrastruktur einer Spermatide in der Kappen-Phase

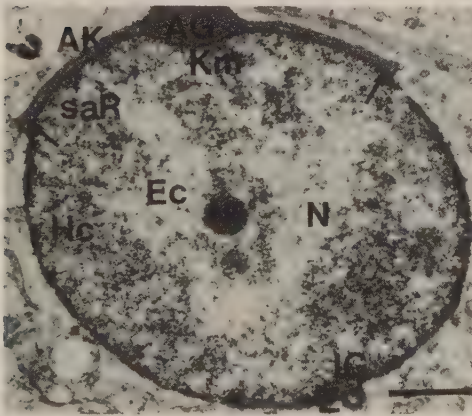


Abb. 10b: Ultrastruktur eines Spermatidenkernes in der Kappen-Phase

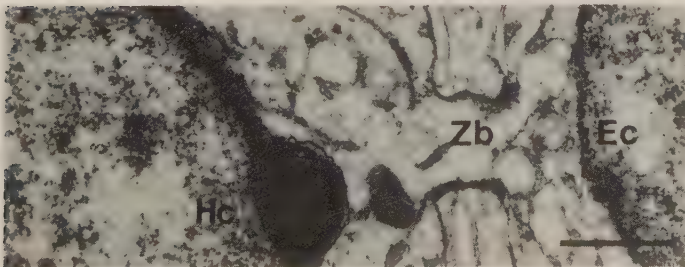


Abb. 10c: Zellbrücke zwischen zwei Spermatiden in der Kappen-Phase

III. Spermatiden der Akrosomen-Phase

Spermatiden der frühen Akrosomen-Phase kommen in der Phase 2 des Keimepithelzyklus vor (Abb. 11a u. b).

Es handelt sich um längliche Zellen von $9.35 \times 3.9 \mu\text{m}$ Größe, die stets radiär angeordnet im Zellverband des Tubulusquerschnittes liegen.

Der bislang ovale Zellkern (Abb. 11a, N) nimmt nun eine deutlich birnenförmige Gestalt an und hat eine Größe von $4.74 \times 3 \mu\text{m}$. Er liegt im lumenabgewandten Anteil des Zytoplasmas und verdrängt dieses hier vollständig. Damit liegt er dem Plasmalemm direkt auf.

Nimmt das Heterochromatin in der Kappen-Phase etwa 50 % des Kernplasmas in Anspruch, so stellt es zu Beginn der Akrosomen-Phase ca. 65 % und verleiht dem Kern damit eine hohe elektronenoptische Dichte (Abb. 11b, Hc). Seine zuvor wolkig-flockige Struktur weicht zunehmend einem granulären Erscheinungsbild, unverändert bleibt die gleichmäßige Verteilung im Kernplasma.

In vielen Schnitten ist ein elektronenoptisch dichter, im Durchmesser ca. $0.39 \mu\text{m}$ großer Nucleolus (Abb. 11b, Nl) nachweisbar, der in der Mitte des akrosomenwärtigen Drittels im Zellkern ruht. Auf der Spitze des Zellkernes nimmt das elektronendichte ehemalige Akrosomengranulum eine dreieckige Gestalt an und flacht mit seiner Basis die äußere Kernmembran ab. Es entläßt seitlich feine, elektronenoptisch dunkle Ausläufer, die die Kernspitze bis knapp zur Hälfte der Kernlänge umschließen und die gemeinsam mit den beidseits dicht aufliegenden Membranen der ehemaligen Akrosomen-Vakuole das eigentliche Akrosom bilden (Abb. 11a u. b, A). Es enthält in den Membranspalten gra-

nuläres, relativ elektronendichtes Material. Das Akrosom wird vom ca. $0.06\ \mu\text{m}$ breiten subakrosomalen Raum unterlagert, der seinerseits mit relativ elektronendichtem, granulärem Material angefüllt ist (Abb. 11b, saR).

Wie in der Kappen-Phase bilden die Umschlagpunkte von der äußeren auf die innere Akrosomenmembran kleine Aussackungen, die den perinukleären Endwulst (Abb. 11b, pE) darstellen. Der Spermatidenkern ist an der korrespondierenden Stelle leicht eingedellt und erhält somit eine ringförmige, den Kern einschnürende Rinne.

Auffällig sind unmittelbar darauf folgende, tubuluslumenwärts gelegene chromatinfreie Spalträume, die regelmäßig beobachtet werden können.

Auf sie folgt wiederum distal ein im Schnitt in Form zweier elektronenoptisch dunkler, beidseits des Kernes liegender Punkte erscheinender Ring, der Anfangswulst der Manschette. Er stellt den Ursprung eines nach distal gerichteten, elektronenoptisch hellgrauen Tubulussystems, der sogenannten Manschette (Abb. 11b, Ma), dar. Ihre im Durchschnitt $0.03\ \mu\text{m}$ dicken Tubuli liegen in mehreren Lagen dicht gestapelt und umhüllen so den Hals der Spermatide.

Der Halsbereich der Spermatide (Abb. 12b) stellt sich wie folgt dar:

Die Implantations-Grube hat den lumenwärtigen Pol der Spermatide erreicht, eine mäßige Verdichtung des Chromatins fällt auf der inneren und äußeren Kernmembran über der Implantations-Grube auf (Abb. 12 b, IG).

Nach distal folgt ihr zunächst ein $0.055\ \mu\text{m}$ breiter, mit lockerem granulärem Material gefüllter Spaltraum, darauf die elektronenoptisch sehr dunkle, $0.03\ \mu\text{m}$ dicke Basalplatte (Abb. 12 a, Bp) und ihr wiederum ein weiterer, dem oben be-

schriebenen ähnelnder Spaltraum.

Das proximale Zentriol ist rechtwinklig von der Spermatidenachse abgewinkelt und liegt mit seinem Ursprung lediglich durch einen kleinen, mit granulärem Material gefüllten Spalt abgehoben unmittelbar vor dem distalen Zentriol (Abb. 12b, Zp, Zd).

In einigen Spermatidenanschnitten der beginnenden und ausgeprägten Akrosomen-Phase ist eine seitlich angeordnete, filamentartige Struktur, das sogenannte Verbindungsstück, zu erkennen, das die Strecke zwischen Basalplatte und dem distalen Zentriol überbrückt (Abb. 12b, Vs).

Dieses erstreckt sich nun parallel zur Spermatidenachse und stellt die Wurzel der schon deutlich ausgebildeten Fibrillen dar, die das Flagellum bilden (Abb. 12a u. b, Fl).

Sie liegen im Bündel leicht gewellt auf einer Länge von bis zu $1.07\ \mu\text{m}$ in einem chromatinfreien, von einer feinen Membran umhüllten Raum und weichen dann aus der Schnittebene ab. Am proximalen Ansatz dieses elektronenoptisch leeren Raumes fällt beidseits des Fibrillenbündels der Anschnitt eines Ringes, des sogenannten Anulus, auf, der sich aus einem elektronenoptisch sehr dunklen, $0.1\ \mu\text{m}$ starken Reif und einer wolkig-granulären, $0.23\ \mu\text{m}$ dicken Struktur zusammensetzt (Abb. 12a u. b, An).

Erwähnenswert ist schließlich noch ein meist runder, im Durchmesser $0.16\ \mu\text{m}$ großer, sehr elektronendichter Einschluss, der dem distalen Zentriol in vielen Fällen seitlich angeheftet ist (Abb. 12 a $\leftarrow$).

Die Organellen der Spermatide in der Akrosomen-Phase rücken ausnahmslos in ihren lumenwärtigen Zytoplasma-

fortsatz vor, auffällige qualitative und quantitative Unterschiede zur vorher beschriebenen Phase fallen nur am ER auf.

Es besteht nunmehr fast ausschließlich aus säckchenförmigen und kurz tubulären Strukturen, die gleichmäßig verteilt liegen und einen äußerst spärlichen Ribosomenbesatz aufweisen.

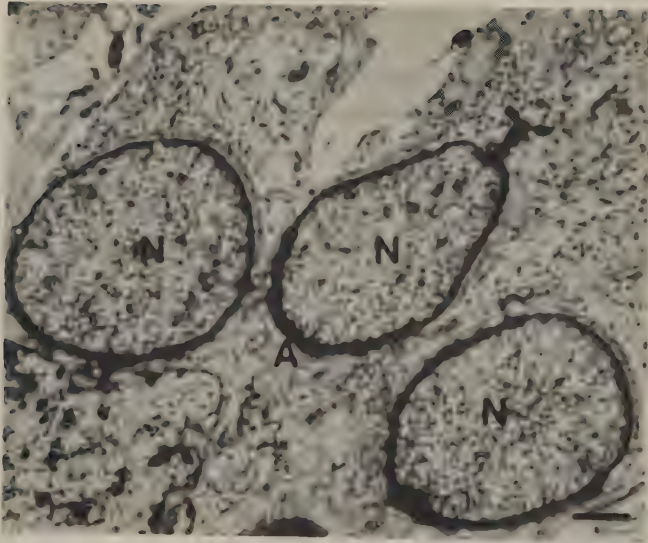


Abb. 11a: Ultrastrukturelle Ansicht mehrerer Spermatiden in der frühen Akrosomen-Phase

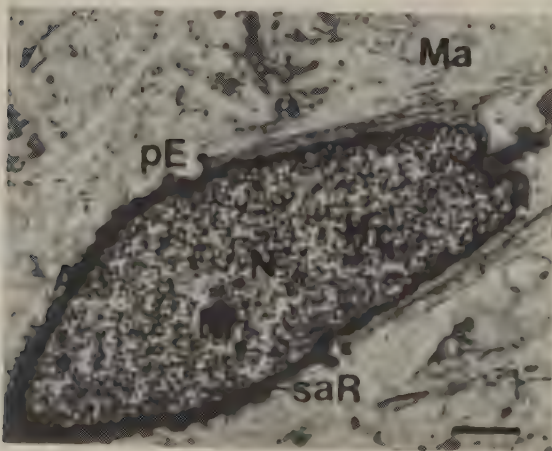


Abb. 11b: Ultrastruktur des Kopfes und Manschettenursprungs einer Spermatide in der frühen Akrosomen-Phase

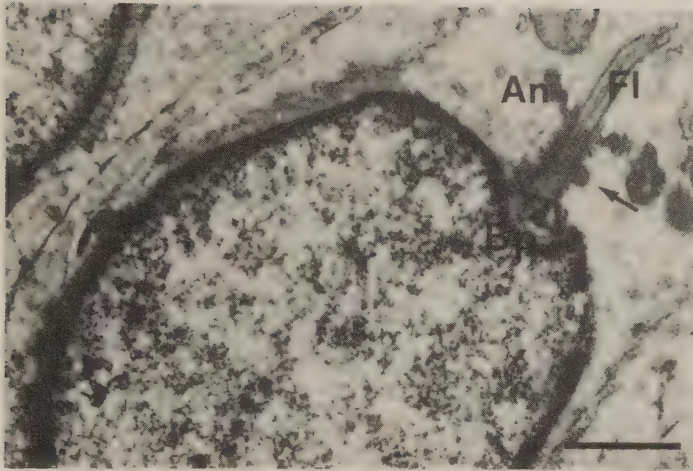


Abb. 12a: Kern und Halsbereich einer Spermatide in der frühen Akrosomen-Phase

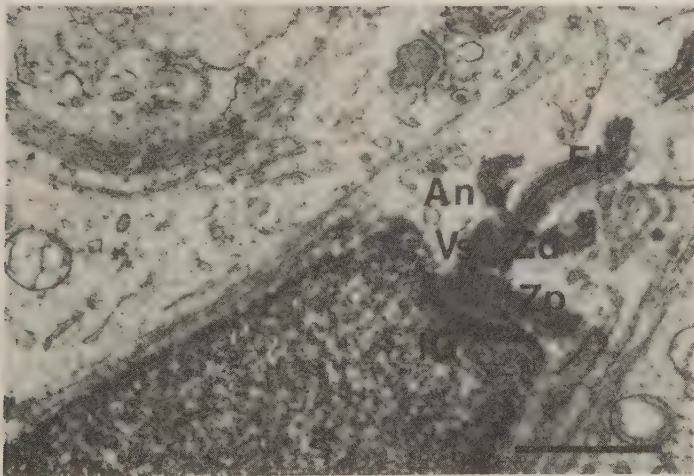


Abb. 12b: Hals einer Spermatide in der frühen Akrosomen-Phase

Spermatiden in der ausgeprägten Akrosomen-Phase können in der Phase 3 des Keimepithelzyklus angetroffen werden (Abb. 13).

Im Vergleich zu den vorher beschriebenen Verhältnissen fällt besonders die Formveränderung der Spermatide und insbesondere die ihres Kopfes auf.

Mit einer Größe von $13.15 \times 1.85 \mu\text{m}$ liegt sie meist gebündelt mit anderen Spermatiden in die Zytoplasmafortsätze der Sertoli-Zelle (Abb. 13, SZ) eingefügt lumen- nahe im Tubulus, wobei die Kerne stets lumenabgewandt angeordnet sind. Die Kerngröße beträgt im Durchschnitt $6.14 \times 0.92 \mu\text{m}$, seine vorher noch plumpe Grundform weicht einer langgestreckten Keilform (Abb. 13, N).

Besonders augenfällig ist die deutliche Zunahme der Elektronendichte des Spermatidenkernes, der in der ausgeprägten Akrosomen-Phase mit groben, sehr dicht angeordneten Heterochromatingranula (Abb. 13, Hc) angefüllt ist.

Das Euchromatin ist auf eine im Durchmesser $0.37 \mu\text{m}$ große, in der Mitte des Spermatidenkopfes liegende Insel zusammengedrängt (Abb. 13, Ec).

Vereinzelte können kreisrunde, elektronenoptisch homogen grau erscheinende Einschlüsse im Spermatidenkern beobachtet werden (Abb. 14, $\leftarrow$), die in der Kernmitte angesiedelt sind. Die Ausdehnung des Akrosoms (Abb. 13, A), das an seiner Spitze einen ca. $0.89 \times 0.42 \mu\text{m}$ großen, vom Spermatidenkopf rinnenförmig abgeschnürten Wulst bildet, erstreckt sich nun auf etwas mehr als die Hälfte der Länge des Spermatidenkernes.

Während die Akrosomenspitze meistens von elektronenoptisch homogenem grauem Material angefüllt ist, schließt sie in einigen Schnitten geringe Anteile der inneren Akro-

somenmembran und des Kernchromatins mit ein, die von einem nahezu chromatinfreien, bis zu $0.43 \times 0.19 \mu\text{m}$ großen Anteil des subakrosomalen Raumes umgeben sind (Abb. 14, saR). Hinsichtlich der Manschette und der Schwanzanlage der Spermatide ergeben sich keine gravierenden Variationen zur frühen Akrosomen-Phase.

Die Orientierung der Zellorganellen im zunehmend langgestreckten Zytoplasmaanteil der Spermatide zum Tubuluslumen hin schreitet weiter fort.



Abb. 13: Ultrastruktur von Spermatiden in der ausgeprägten Akrosomen-Phase



Abb. 14: Ultrastruktur eines Spermatidenkopfes in der ausgeprägten Akrosomen-Phase

Spermatiden, die sich am Ende der Akrosomen-Phase befinden, sind in der Phase 4 des Keimepithelzyklus angesiedelt (Abb. 15a-c).

Die Formveränderung der gesamten Zellen, insbesondere ihres Kernes, ist am Ende der Akrosomen-Phase besonders auffällig. Ausnahmslos radiär angeordnet nimmt sie eine hochovale bis hochelyptoide Form an, wobei ihr Zytoplasma stets lumenwärts orientiert ist.

Der Kern mit der ihn bedeckenden Akrosomenkappe (Abb. 15a, N u. AK) stellt den lumenabgewandten Spermatidenanteil dar, seine zunächst keilförmige Gestalt flacht sich weiter ab, so daß er gegen Ende der Akrosomen-Phase bei einer Größe von $5.6 \times 0.82 \mu\text{m}$ nahezu die Form einer Lanzenspitze annimmt.

Seine Chromatindichte nimmt weiter zu, in einigen Schnitten ist wiederum eine elektronenoptisch helle Euchromatininsel erkennbar (Abb. 15b, Ec). Überzog das Akrosom zunächst nur etwa die proximale Hälfte des Kernes, so bleibt schließlich nur noch ca. ein Viertel des Kernes unbedeckt (Abb. 15a, A).

Der apikale Anteil des Akrosoms differenziert sich weiter zu einem knopfartigen, von einer deutlichen Rinne gegen die übrige Akrosomenstruktur abgesetzten Gebilde von bis zu $0.59 \mu\text{m}$ Durchmesser (Abb. 15a, ←).

Der vorher beschriebene perinukleäre Endwulst des Akrosoms und der Anfangswulst der Manschette entfernen sich durch das Abwandern der Manschette (Abb. 15b, Ma) nach distal voneinander und deuten so den Beginn der Reifungs-Phase an (Abb. 15b, pE).

Mit ihm verschiebt sich auch das Zytoplasma der Spermatide weiter lumenwärts, seine Organellen liegen dicht zusammengedrängt nebeneinander.

Besonders auffallend sind die zahlreichen desmosomalen Verbindungen (Abb. 15a, D), die dicht aufeinanderfolgend den Spermatidenkopf an die Fortsätze der umliegenden Sertoli-Zellen (Abb. 15 a, SZ) anheften.

Weite Teile des gut ausgebildeten Flagellums (Abb. 15b, Fl) sind leicht gewunden, noch in Zytoplasma eingehüllt sichtbar. Der zuvor chromatinfreie Raum, der am Anulus entspringt und den Ursprung des Flagellums umschließt, flacht sich weiter ab und begleitet nun das Flagellum als schmaler Saum distal (Abb. 15 b, An).

Hinsichtlich der Organellenanordnung fällt in der späten Akrosomen-Phase die Häufung parallel zum Flagellum angesiedelter Mitochondrien ins Auge, die auch in ihrer gestreckten längsoval abgeflachten Form von ihrem bisherigen Erscheinungsbild abweichen (Abb. 15 b, M).

IV. Spermatiden der Reifungs-Phase

Spermatiden der frühen Reifungs-Phase sind in den Phasen 5 und 6 des Keimepithelzyklus anzutreffen (Abb. 15c).

Sie weichen in ihrer Orientierung zum Tubuluslumen, ihrer Größe und ihrer Grundform nicht wesentlich von den Spermatiden der späten Akrosomen-Phase ab.

Sie stellen sich als weitgehend abgeflachte, langgestreckte Zellen mit einem lumenabgewandten Kern von $5.67 \times 0.88 \mu\text{m}$ Größe und schmalen, lumenwärtig orientierten Zellkörper dar.

Auffällig ist jedoch zunächst die hohe Kondensation des Kernchromatins, das nahezu vollständig elektronendicht ist und nur noch andeutungsweise granuläre Strukturen erkennen läßt (Abb. 15c, N).

Vereinzelte heben sich wie in den vorherigen Differenzierungs-Phasen kleine, elektronenoptisch helle Euchromatinansammlungen vom übrigen Kernplasma ab.

Das Akrosom (Abb. 15c, A) umschließt den Kern wiederum auf etwa Dreiviertel seiner Länge, der schmale subakrosomale Raum ist mit elektronenoptisch mäßig dichtem, granulärem Material ausgefüllt (Abb. 15c, saR).

Wie schon im vorherigen Differenzierungsstadium beschrieben, weicht der Anfangswulst der Manschette mit der Manschette weiter distal ab (Abb. 15c, Ma). Dadurch wird zunächst der dort lokalisierte chromatinfreie Raum (Abb. 15c, $\leftarrow$) nach distal ausgedehnt, im weiteren flacht er sich ab (Abb. 16a, $\leftarrow$), um schließlich ganz zu verstreichen (Abb. 16b, $\leftarrow$). Erreicht der Anfangswulst der Manschette das distale Ende

des Spermatidenkernes, verschwindet die Manschette der Spermatide ganz (Abb. 16a).

Gleichzeitig ist die zunehmende Einengung des Zelleibes mit einer weitgehenden Formation der Organellen um das Flagellum zu beobachten.

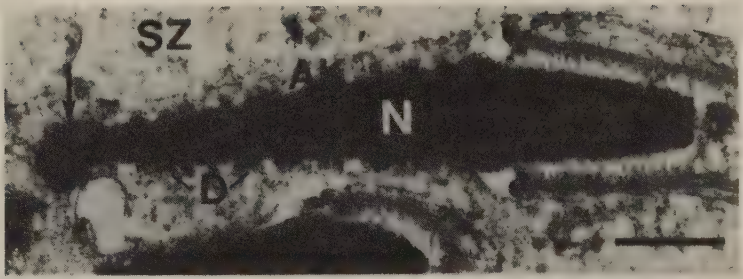


Abb. 15a: Ultrastruktur eines Spermatidenkopfes am Ende der Akrosomen-Phase

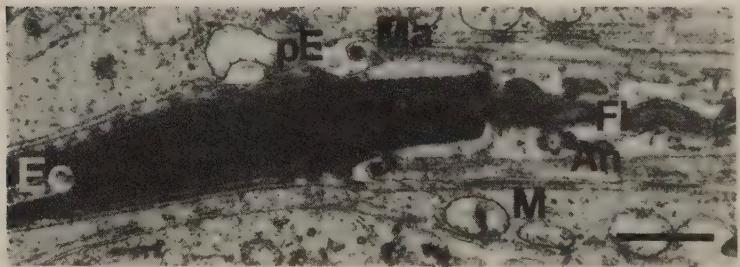


Abb. 15b: Ultrastruktur von Kopf und Hals einer Spermatide am Ende der Akrosomen-Phase

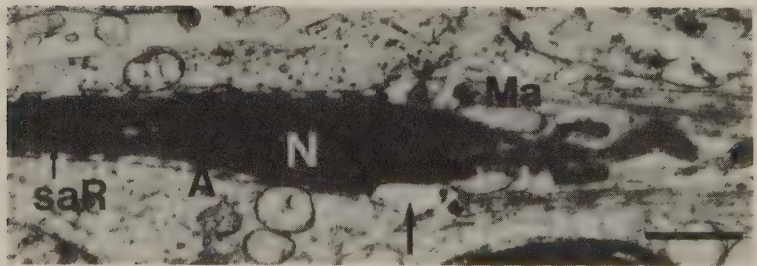


Abb. 15c: Kopf und Halsbereich einer Spermatide zu Beginn der Reifungs-Phase



Abb. 16a: Hals und Schwanzbereich einer Spermatide in der frühen Reifungs-Phase

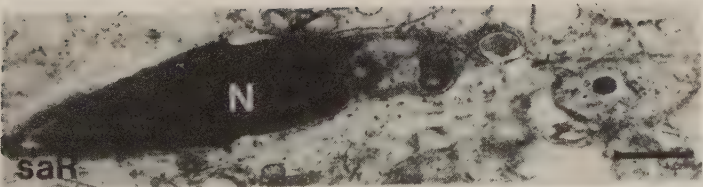


Abb. 16b: Kopf und Hals einer Spermatide in der frühen Reifungs-Phase (späterer Zeitpunkt)

Spermatiden auf dem HShepunkt der Reife-Phase sind in den Phasen 7 und 8 des Keimepithelzyklus nachweisbar (Abb. 17 a-c).

Der weit abgeflachte, spitz zulaufende Kern von 3.86×1.78 $0.18 \mu\text{m}$ Größe (Abb. 17a, N) hat nun seine maximale elektronenoptische Dichte erlangt, er erscheint auch bei höheren Vergrößerungen homogen, Euchromatinflocken sind nicht mehr nachweisbar.

Selten ist im apikalen Kernanschnitt eine elektronenoptisch lockere Aufhellung lokalisiert.

Das Akrosom erscheint elektronenoptisch blaßgrau und ist von einem ca. $0.099 \mu\text{m}$ breiten subakrosomalen Raum (Abb. 17a, saR) unterlagert, der mit hellem, wolkigem Material angefüllt ist.

Besonders auffallend ist der apikale Abschnitt des Akrosoms. War er bislang als rundliches Gebilde vom Kern abgeschnürt, bildet er nun einen etwa $0.68 \mu\text{m}$ langen abgeflachten, leicht von der Längsachse abweichenden Ausläufer (Abb. 17a-c, Ap).

In seinem Zentrum fällt die pfeilspitzenartig weit vorgezogene innere Akrosomenmembran auf (Abb. 17a, Ami), die zum Kern hin von der äußeren Kernmembran abgegrenzt einen elektronenoptisch hellen, keilförmigen Raum umschließt und somit das Perforatorium (Abb. 17a, P) bildet, das eine Länge von $0.35 \mu\text{m}$ erreicht.

Zum Zeitpunkt der Abgabereife der Spermatide ins Tubuluslumen sind drei Hauptanteile des Spermatidenkopfes differenzierbar, nämlich das durchschnittlich $1.97 \mu\text{m}$ lange Hauptstück, zu dem der oben erwähnte apikale Akrosomenabschnitt mit dem Perforatorium zählt, das $0.62 \mu\text{m}$ lange Äquatorialsegment und der postakrosomale Anteil des Spermatidenkopfes, der eine Gesamtgröße von $5.18 \times 2.6 \times 0.44 \mu\text{m}$

erreicht (Abb. 17a, H, Äs, pA).

Die Dicke des Akrosoms beträgt im Hauptstück durchschnittlich $0.069\text{ }\mu\text{m}$, am Äquatorialsegment variiert seine Dicke von $0.044\text{ }\mu\text{m}$ im vorderen Abschnitt bis zu $0.095\text{ }\mu\text{m}$ im Bereich einer wulstartigen Auftreibung, die das Akrosom nach distal begrenzt. Das Flagellum (Abb. 17b, Fl) mit seinen üblichen neun äußeren Doppelfibrillen und zwei zentral gelegenen Fibrillen ist von einer dicht gelagerten Schicht aus Mitochondrien umschlossen, die das Mittelstück des späteren Spermiums markieren (Abb. 17b, M).

Die übrigen Zellorganellen sind im Inhalt eines ca. $2.9 \times 1.6\text{ }\mu\text{m}$ großen Zytoplasmatrofens zusammengedrängt, der sich dem Spermatidenkopf unmittelbar nach distal anschließt und das Flagellum und dessen Mitochondrienummantelung dicht einschließt.

Er enthält vorwiegend kurz tubuläre Strukturen glatten endoplasmatischen Retikulums (Abb. 17c, ER), sein wolziges Zytoplasma besitzt eine geringe elektronenoptische Dichte.

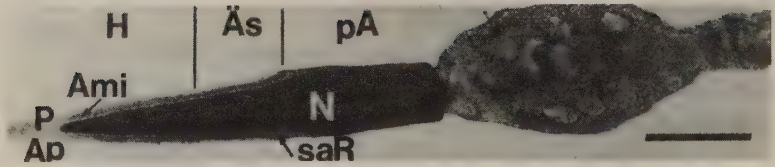


Abb. 17a: Ultrastruktur eines Spermatidenkopfes mit Zytoplasmotropfen auf dem Höhepunkt der Reifungs-Phase

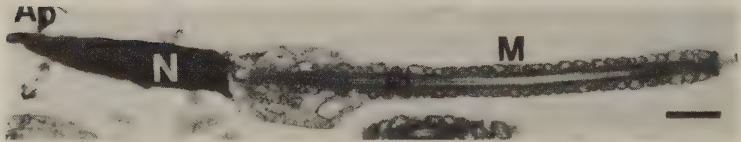


Abb. 17b: Ultrastruktur einer Spermatide auf dem Höhepunkt der Reifungs-Phase

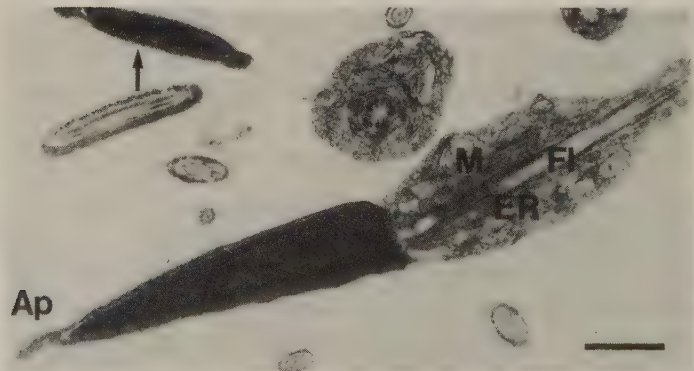


Abb. 17c: Schräg- und Querschnitt (←) durch Kopf, Zytoplasmotropfen und Flagellum einer Spermatide am Ende der Reifungs-Phase

Verzeichnis verwendeter Abkürzungen

A	Akrosom
Äs	Äquatorialsegment
AG	Akrosomengranulum
AK	Akrosomenkappe
Ami	innere Akrosomenmembran
An	Anulus
Ap	apikaler Abschnitt des Akrosoms
AV	Akrosomen-Vakuole
Bm	Basalmembran
Bp	Basalplatte
CK	Chromatoid-Körper
D	Desmosom
Ec	Euchromatin
ER	endoplasmatisches Retikulum
Fl	Flagellum
G	Golgi-Feld
GV	Golgi-Vesikel
H	Hauptstück
Hc	Heterochromatin
IG	Implantations-Grube
iZ	intermitochondriale Zwischensubstanz
Km	Kernmembran
L	Lysosom
M	Mitochondrium
Ma	Manschette
MK	multivesikulärer Körper
MS	Membran-Stapel
N	Nucleus
Nl	Nucleolus
P	Perforatorium
pA	postakrosomaler Anteil des Spermatidenkopfes
pE	perinukleärer Endwulst
R	Ribosomen
saR	subakrosomaler Raum
Sat	Satellit
SK	synaptonemaler Komplex
Sp	Spermatogonie
SZ	Sertoli-Zelle
Sz I	Spermatozyt I
Sz II	Spermatozyt II
Vs	Verbindungsstück
Z	Zentriol
Zb	Zellbrücke
Zd	distales Zentriol
Zp	proximales Zentriol

Die in den Abbildungen unten rechts eingezeichnete durchgezogene Linie entspricht der Länge von 1 μ m.

DISKUSSION

A. Phaseneinteilung des Keimepithelzyklus

Die Differenzierung der männlichen Keimzellen des Pferdes läuft während eines Keimepithelzyklus in 8 Phasen ab. Als Phase 8 wird dabei ein von reifen Spermatiden gesäumtes Tubuluslumen, als Phase 1 der Zeitpunkt nach der Abgabe dieser reifen Spermatiden ins Tubuluslumen definiert. Diese Einteilung nehmen bereits Swierstra et al. (1974) für das Keimepithel des Hengstes vor.

Sie stützen sich in diesem Punkt ebenso wie die vorliegende Arbeit im wesentlichen auf Untersuchungen zur Kinetik des Keimepithelzyklus von Roosen-Runge (1950), Swierstra (1968) und Ortravant et al. (1969). Dabei ist jedoch zu beachten, daß die in der Literatur angeführten Phaseneinteilungen bei den verschiedenen Tierarten sehr unterschiedlich vorgenommen werden. Die Festsetzung von Beginn und Ende des Keimepithelzyklus erfolgt nach eigenen Kriterien des jeweiligen Autors willkürlich.

B. Spermatogenese

Die durchgeführten Untersuchungen zeigen die Existenz von 3 voneinander bedingt abgrenzbaren Erscheinungsbildern von Spermatogonien, die in allen 8 Phasen des Keimepithelzyklus des Pferdes beobachtet werden können.

Hauptunterschiede sind in der Größe ihres Zelleibes sowie in der Konfiguration ihres Kernes feststellbar.

Zwischen diesen 3 Varianten sind zahlreiche fließende Über-

gänge sichtbar, so daß eine Zuordnung zu den in der Literatur definierten Spermatogonientypen mit Hilfe der angewandten Untersuchungsmethoden nicht sinnvoll erscheint.

Die erste und dritte beschriebene Variante liegen der Basalmembran nur gering auf und ähneln darin der Grundform der I- und B-Spermatogonie des Rindes (Ekstedt et al., 1986) und der B-Spermatogonie des Menschen (Dym und Cavicchia 1978; Rowley et al., 1971).

Die zweite Spermatogonienart liegt der Basalmembran hingen flach an und ähnelt eher der A-Spermatogonie des Menschen (Rowley et al., 1971; Dym und Cavicchia, 1978) sowie der des Rindes (Ekstedt et al., 1986).

Weitere Parallelen ergeben sich in einigen Merkmalen des Zellkernes.

Der rundliche bis ovale Kern der ersten beschriebenen Erscheinungsform erinnert mit seiner geringen Heterochromatinfülle und dem deutlichen Nukleolus an die A-Spermatogonie des Menschen (Dym und Cavicchia, 1978), des Rindes (Ekstedt et al., 1986), des Kaninchens (Nicander und Plöen, 1969) und der Maus (Gardner und Holyoke, 1964).

Der auffällig chromatinreiche Kern der dritten beschriebenen Spermatogonienvariante mit Tendenz zur Chromatinanreicherung in Nukleolusnähe zeigt Parallelen zu der von Lengfelder (1978) erwähnten B-Spermatogonie des Rindes, der des Menschen (Dym und Cavicchia, 1978) und der B-Spermatogonie der Maus (Gardner und Holyoke, 1964).

Übereinstimmend mit Dym und Cavicchia (1978), Lengfelder (1978), Ekstedt et al. (1986) und Nicander und Plöen (1969) können auch bei Spermatogonien des Pferdes große Mengen freier Mono- und Polyribosomen im insgesamt organellenarmen Zytoplasma nachgewiesen werden.

Beschreiben Ekstedt et al. (1986) beim Rind und Dym und Cavicchia (1978) beim Menschen die Existenz glatten endoplasmatischen Retikulums, so sind in den eigenen Untersuchungen vorwiegend schwach ribosomenbesetzte Strukturen rauhen endoplasmatischen Retikulums nachweisbar, wie sie bei allen Spermatogonientypen des Menschen von Rowley et al. (1971), des Rindes von Lengfelder (1978) und des Kaninchens von Nicander und Plöen (1969) gefunden wurden.

Eine auffallende Orientierung der zum Teil von intermitochondrialer Zwischensubstanz verbundenen Mitochondrien seitlich des Zellkernes kann in den vorliegenden Untersuchungen bei der zweiten und dritten beschriebenen Spermatogonienvariante herausgestellt werden, dies entspricht den Beobachtungen von Ekstedt et al. (1986) bei der A-Spermatogonie des Rindes. Rowley et al. (1971) und Dym und Cavicchia (1978) beschreiben beim Menschen und Lengfelder (1978) beim Rind eine leichte Vermehrung der Zellorganellen zwischen A- und B-Spermatogonien, die in den drei hier diskutierten Erscheinungsbildern ebenfalls nachweisbar ist. Grundsätzlich entspricht die Phasenzugehörigkeit der einzelnen Meiosestadien primärer Spermatozyten des Pferdes den Verhältnissen im Keimepithel des Rindes.

Primäre Spermatozyten im Leptotän verfügen beim Pferd über einen ovoiden Zellkern mit relativ geringem Heterochromatidgehalt, der gleichmäßig im Kernplasma verteilt ist, sie stimmen damit in diesen Details mit den von Ekstedt et al. (1986) und Lengfelder (1978) beobachteten Leptotän-Spermatozyten des Rindes und denen des Kaninchens (Nicander und Plöen, 1969) weitgehend überein.

Größere Heterochromatinverklumpungen beschreiben dagegen Dym

und Cavicchia (1978) beim Menschen.

Die übereinstimmende Beobachtung eines geringen Organellengehaltes deckt sich ebenfalls mit den eigenen Untersuchungsergebnissen. Beim Pferd sind jedoch weniger freie Mono- und Polyribosomen in dieser Differenzierungsform sichtbar als die vorher erwähnten Spermatogonien enthalten, was Nicander und Plöen (1969) in gleicher Weise für das Kaninchen feststellen, wohingegen Ekstedt et al. (1986) einen Ribosomenanstieg im Zytoplasma erwähnen.

Nur beim Rind werden auffällig lange endoplasmatisch-retikuläre Strukturen erwähnt (Lengfelder, 1978).

Die von Nicander und Plöen (1969) beim Kaninchen schon im Leptotän beobachteten Strukturen eines multivesikulären Körpers lassen sich wie bei den anderen Tierarten auch beim Pferd nicht nachweisen. Demgegenüber sticht die Beobachtung von Chromatoid-Körpern bei Leptotän-Spermatozyten des Pferdes aus den Literaturangaben zu anderen Tierarten heraus.

Ebenso sind die erwähnten elektronenoptisch dunklen Membranstapel in der Literatur bislang unerwähnt.

Primäre Spermatozyten im Zygotän verfügen beim Pferd über einen etwas kleineren Kern mit erhöhtem Heterochromatingehalt, es liegt vorwiegend der Kernmembran an und ähneln darin den Beschreibungen von Rinderspermatozyten von Lengfelder (1978).

Ekstedt et al. erkennen demgegenüber 1986 eine Kernvergrößerung beim Zygotän-Spermatozyten des Rindes, desgleichen Nicander und Plöen (1969) bei denen des Kaninchens und Gardner und Holyoke (1964) bei denen der Maus.

Das Auftreten von synaptonemalen Komplexen im Spermatozy-

tenkernen wird von Lengfelder (1978) und Ekstedt et al. (1986) beim Rind und von Gardner und Holyoke (1964) bei der Maus beobachtet, nicht jedoch in den vorliegenden Untersuchungen von Spermatozyten dieses Meiosestadiums beim Hengst.

Die beim Pferd auffallenden multivesikulären Körper hingegen werden auch beim Rind (Lengfelder, 1978) und Kaninchen (Nicander und Plöen, 1969) erwähnt.

Alle bisher genannten Autoren beschreiben die auch beim Pferd beobachtete Zunahme von Zellorganellen im Zygotän mit besonderer Betonung des endoplasmatischen Retikulums.

Auch eine Gruppierung von Zwischensubstanz zusammengefügteter Mitochondrien wird von den genannten Autoren erwähnt.

Primäre Spermatozyten im Pachytän zeigen beim Pferd erstmals das Auftreten synaptonemaler Komplexe.

Wie von Lengfelder beim Rind (1978) beschrieben, ist auch beim Pferd zu Beginn des Pachytäns eine geringe Abnahme und gegen Ende dieses meiotischen Stadiums eine Zunahme der Zellgröße auffällig.

Die von Dym und Caviochia (1978), von Nicander und Plöen (1964), Gardner und Holyoke (1964) sowie Ekstedt et al. (1986) bei Mensch, Kaninchen, Maus und Rind beschriebene Zunahme des Zellvolumens kann beim Pferd wie in Untersuchungen von Lengfelder (1978) beim Rind nur andeutungsweise nachvollzogen werden.

Übereinstimmend bei allen untersuchten Tierarten, und so auch beim Hengst, kann die Auffälligkeit synaptonemaler Komplexe und die Vermehrung und Verdichtung des Kernchromatins im Pachytän festgestellt werden, wobei gewisse

Schwankungen der Messwerte auch bei primären Spermatozyten des Rindes von Lengfelder (1978) beobachtet wurden.

Die beim Pferd augenfällige Zunahme von Zellorganellen, besonders endoplasmatisch-retikulärer Strukturen und des Golgi-Feldes sowie eine Zusammenlagerung von Mitochondrien zu Gruppen wird auch von Ekstedt et al. (1986) und Lengfelder (1978) beim Rind und Nicander und Plöen (1969) beim Kaninchen beschrieben, letztere beobachteten jedoch gegen Ende des Pachytäns bereits ein erneutes Auseinanderweichen der Mitochondrien.

Nicander und Plöen stellen 1969 eine hohe Anzahl freier Ribosomen in primären Spermatozyten im Pachytän beim Kaninchen fest, die eigenen Untersuchungen lassen beim Pferd eher eine Abnahme dieser Organellen erkennen, wie sie auch von Ekstedt et al. (1986) erwähnt wird.

Die auch im vorliegenden Meiosestadium beschriebenen Chromatoid-Körper werden auch von Nicander und Plöen (1969) und Lengfelder (1978) bei Kaninchen bzw. Rind im Pachytän nachgewiesen.

Primäre Spermatozyten im Diplotän zeigen einen geringen Anstieg der Größe des Zelleibes und -kernes, diese Beobachtung wird auch für das Rind durch Untersuchungen von Lengfelder (1978) und Ekstedt et al. (1986) gestützt, ähnliche Beobachtungen machten Gardner und Holyoke (1964) bei der Maus.

Konstatiert Lengfelder (1978) eine Abnahme des Heterochromatins von Rinderspermatozyten im Diplotän, so zeigt das Heterochromatin bei der gleichen Zelle des Hengstes noch keine wesentliche Änderung gegenüber dem Pachytän, eine vermehrte Kondensation des vorhandenen Heterochromatins auf

der Kernmembran kann jedoch auch beim Pferd nachgewiesen werden.

Eine erhebliche Abweichung von den Befunden Lengfelders beim Rind (1978) und den eigenen Beobachtungen beim Pferd stellt die Darstellung von Ekstedt et al. (1986) dar, die schon im Diplotän das vollkommene Fehlen synaptonemaler Komplexe im Zellkern von Rinderspermatozyten nachweisen.

Hinsichtlich der Organellenbeschreibung ist vor allem das von Ekstedt et al. (1986) festgestellte Auseinanderweichen der Mitochondrien und Hinterlassen ihrer intermitochondrialen Zwischensubstanz im Zytoplasma erwähnenswert, zumal dieser Vorgang in den eigenen Untersuchungen und denen von Lengfelder (1978) am Rind nicht zu beobachten ist.

Darüber hinaus fällt in Pferdespermatozyten im Diplotän eine Vermehrung des endoplasmatischen Retikulums und eine Vergrößerung des Golgi-Feldes auf, für andere Tierarten gibt es darauf keine Hinweise.

Primäre Spermatozyten zum Zeitpunkt der Diakinese ähneln, wie auch von Lengfelder (1978) beim Rind beschrieben, den Zuständen im Diplotän, steigt jedoch in seinen Beobachtungen der Heterochromatingehalt des Kernes leicht an, so fällt er beim Pferd massiv ab.

Synaptonemale Komplexe, wie sie beim Pferd nachgewiesen werden können, werden auch von Gardner und Holyoke (1964) bei der Maus und von Lengfelder (1978) beim Rind zum Zeitpunkt der Diakinese erwähnt.

Aus dem Organellengehalt stechen die Mitochondrien leicht heraus, deren Anzahl beim Pferd weiter leicht wächst und die nahe an der Kernmembran lokalisiert, vorwiegend durch intermitochondriale Zwischensubstanz verbunden sind, Lengfelder stellt sogar 1978 ihre besondere Ausprägung in der

Diakinese beim Rind heraus.

Multivesikuläre Körper, Chromatoid-Körper und die Struktur eines Satelliten sind wie beim Rind (Lengfelder, 1978) auch beim Pferd in diesem Meiosestadium regelmäßig anzutreffen.

Sekundäre Spermatozyten werden auch beim Pferd relativ selten beobachtet.

Wie von Gardner und Holyoke (1964) bei der Maus und von Lengfelder (1978) beim Rind beobachtet, verfügen auch sekundäre Spermatozyten des Pferdes über eine geringere Zell- und Zellkerngröße als primäre Spermatozyten. Nur Ekstedt et al. weichen 1986 mit der Beschreibung eines relativ großen sekundären Spermatozyten mit großem Nukleolus beim Rind von den genannten Autoren ab.

Demgegenüber unterscheidet sich das von Gardner und Holyoke (1964) beim sekundären Spermatozyten der Maus beobachtete Verteilungsmuster des Heterochromatins, sie erkennen eine zentrale Kondensation im Spermatozyten-Kern, von den übrigen Angaben in der Literatur, die von einer lockeren, relativ gleichmäßigen Heterochromatinverteilung im Kernplasma sprechen, wie sie auch beim Pferd nachweisbar ist.

Der auch von Lengfelder (1978) beim Rind erwähnte exzentrische Nukleolus ist beim Pferd von auffälliger Größe, nach Gardner und Holyoke (1964) fehlt ein Nukleolus im Kern des sekundären Spermatozyten der Maus ganz.

Eine Abweichung der eigenen Befunde von den Literaturangaben über andere Tierarten stellt die Beobachtung synaptonemaler Komplexe beim sekundären Spermatozyten des Pferdes dar.

Hinsichtlich des hohen beobachteten Organellengehaltes ergeben sich Parallelen zwischen den Beobachtungen von Lengfelder (1978) beim Rind und den eigenen beim Pferd, übereinstimmend fällt die Zunahme endoplasmatisch-retikulärer Strukturen auf, ein relativ großes, in unmittelbarer Kernnähe lokalisiertes Golgi-Feld tritt ebenfalls bei beiden Tierarten auf.

Abweichend von den eigenen Befunden beschreibt Lengfelder (1978) dagegen ein schwach mit Ribosomen besetztes endoplasmatisches Retikulum beim Rind, bei dem des Pferdes ist eher eine Zunahme des Ribosomenbesatzes feststellbar.

Bei beiden Tierarten treten regelmäßig Chromatoid-Körper und multivesikuläre Körper auf.

C. Spermatohistogenese

Die Spermatohistogenese des Pferdes ist gemäß der allgemein üblichen Nomenklatur in vier Phasen unterteilbar, die unterschiedliche Entwicklungsstufen des Spermatidenkopfes auf dem Weg zur Ausbildung eines fertigen Spermiums markieren.

Dies sind die Golgi-, die Kappen-, die Akrosomen- und die Reifungs-Phase. Da zwischen die genannten Differenzierungsstadien keinerlei Teilungsvorgänge geschaltet sind, sind sie als Fixpunkte innerhalb eines kontinuierlichen Differenzierungsablaufes zu verstehen.

Spermatiden des Pferdes haben zu Beginn der Spermatohistogenese einen leicht exzentrisch orientierten Zellkern mit

relativ homogenem, wolkigem Kernchromatin. Sie unterscheiden sich somit nicht von den von Dym und Cavicchia (1978) und Horstmann (1961) beim Menschen, von Lengfelder (1978), Sinowatz und Wrobel (1981) und Ekstedt et al. (1986) beim Rind, von Brökelmann (1963) bei der Ratte und Gardner (1965) bei der Maus beschriebenen Spermatiden.

Während jedoch Horstmann (1961) keine Nukleoli im Spermatidenkern des Menschen beschreibt, sondern an ihrer Stelle körniges Material erwähnt, stützen die eigenen Untersuchungen die von Lengfelder (1978) und Ekstedt et al. (1986) beim Rind genannte Beobachtung mindestens eines Nukleolus.

Im weiteren Verlauf der Spermatohistogenese ist die exzentrische, sich vom Tubuluslumen abwendende Verlagerung des Spermatidenkernes im Zytoplasma, seine starke Chromatinverdichtung und seine Abflachung hin zu seiner jeweils speziestypischen Endform von allen oben genannten Autoren übereinstimmend beschrieben.

Die in den eigenen Untersuchungen beim Pferd in der späten Akrosomen-Phase erstmals beobachteten Euchromatininseln im Spermatidenkern, die erst am Ende der Reifungsphase nicht mehr nachweisbar sind, werden von Horstmann (1961) beim Menschen als Kernvakuolen bezeichnet und bleiben in der übrigen Literatur unerwähnt.

Auch beim Pferd ist eine Chromatinverdichtung im Bereich der dem Akrosomengranulum anliegenden Kernmembranfläche nachweisbar, die von allen Autoren einheitlich beobachtet wird.

Nur in den Untersuchungen von Lengfelder beim Rind (1978) und den eigenen beim Pferd wird die spitze Ausziehung des

apikalen Anteils der inneren Akrosomenmembran und Bildung eines weiten, keilförmigen subakrosomalen Raumes mit der Entstehung des Perforatoriums in Verbindung gebracht.

Der Vorgang der Absonderung einer Akrosomenvakuole aus dem Golgi-Feld, die Bildung eines Akrosomengranulums in seinem Lumen und dessen Anlage an die verdichtete Kernmembran, wie auch die sich infolge Abflachung und Ausdehnung der Akrosomenvakuole und Verdichtung ihres Inhaltes bildende Akrosomenkappe, die zunehmend den Kern bis auf zwei Drittel seiner Länge umschließt, entspricht auch in Details den Beobachtungen von Dym und Cavicchia (1978) und Horstmann (1961) beim Menschen, Lengfelder (1978), Sinowatz und Wrobel (1981) und Ekstedt et al. (1986) beim Rind, Brökelmann (1963) bei der Ratte und Gardner (1966) bei der Maus.

Auch hinsichtlich der Manschettenbildung und ihrer Abwanderung nach distal bis zu ihrem völligen Verschwinden und hinsichtlich der Umwandlung der zunächst in der Nähe des Golgi-Feldes lokalisierten und auf den kaudalen Kernpol zuwandernden Zentriolen, die schließlich zu Verankerung des Flagellums werden, bestehen keine gravierenden Abweichungen zwischen den eigenen Befunde und Angaben zur Untersuchung anderer Tierarten in der Literatur.

Abweichend von Dym und Cavicchia (1978) beim Menschen, Lengfelder (1978) und Ekstedt et al. (1986) beim Rind sowie den eigenen Beobachtungen beim Pferd nennt Horstmann (1961) einen "seitlichen Schwanzansatz" und beschreibt damit die von den genannten Autoren als proximales Zentriol bezeichnete Struktur.

Der Abschluß der Spermatohistogenese, der vom weitgehenden

Verlust des Spermatidenzytoplasmas, der Umlagerung des späteren Spermienmittelstückes von Mitochondrien und der Bildung eines langen Flagellums gekennzeichnet ist, wird von Dym und Cavicchia (1978) und Horstmann (1961) beim Menschen, Lengfelder (1978) und Ekstedt et al. (1986) beim Rind, Brökelmann (1963) bei der Ratte und Gardner (1966) bei der Maus beschrieben.

Damit weist die Spermatohistogenese des Hengstes keine gravierenden Abweichungen von den bisher ultrastrukturell untersuchten Spermatiden anderer Tierarten und des Menschen auf.

Z U S A M M E N F A S S U N G

Zur Untersuchung der Ultrastruktur des männlichen Keimepithels beim Pferd wurden die Hoden von 8 geschlechtsreifen und klinisch gesunden Hengsten gewonnen.

Anhand lichtmikroskopischer Auswertungen wurden die 8 Phasen des Keimepithelzyklus ermittelt und ausgewählte Tubulusquerschnitte aller 8 Phasen für die elektronenmikroskopische Differenzierung des Keimepithels herangezogen.

Ultrastrukturell sind drei Erscheinungsbilder von Spermatogonien in allen Phasen sichtbar. Sie liegen der Basalmembran des Tubulus mit unterschiedlicher Fläche auf, Größe und Form ihres Zelleibes und des Kernes sowie ihr Organellengehalt stellen die Hauptvariationen dar. Vielfältige darüber hinaus beobachtete Zwischenstufen machen eine klare Typisierung der Spermatogonien unmöglich.

Bei der Betrachtung der meiotischen Teilungsstadien primärer Spermatozyten fällt bis zum frühen Pachytän eine leichte Größenabnahme auf, danach steigen die Meßwerte wieder an. Eine deutliche Kondensation des Kernchromatins mit Maximum im späten Pachytän und seine erneute gleichmäßige Verteilung in Diplotän und Diakinese kennzeichnen die wesentlichen Kernveränderungen im Verlaufe der Meiose. Zahl und Größe der unterschiedlichen Fraktionen der Zellorganellen nehmen insgesamt zu.

Sekundäre Spermatozyten fallen in ihrer Größe gegenüber primären Spermatozyten leicht ab, verfügen aber über einen großen Organellenreichtum.

Die einzelnen Phasen der Spermatohistogenese werden detailliert beschreiben, eine signifikante Abweichung eigener Befunde gegenüber den Differenzierungsvorgängen im Keimepithel anderer Tierarten ist nicht feststellbar.

S U M M A R Y

Ultrastructural examinations of the seminiferous epithelium in the stallion.

For ultrastructural examinations of the seminiferous epithelium in the horse the testes of eight mature and clinically healthy stallions were used.

After the stages of the seminiferous epithelium were defined by means of light microscopy, specially selected cross sections of all eight stages of the seminiferous epithelium were used to identify and describe the various spermatogenetic cells.

Three different kinds of spermatogonia can be recognized which mainly show variations in size and organelle density. Since a great variety of intermediate spermatogonial shapes can be seen, a precise classification is impossible.

During the different stages of the meiotic division of primary spermatocytes a slight loss of nuclear and cellular size up to the early pachytene and a constant increase of both during diplotene and diakinesis is seen. Number and size of cell organelles show an increase as well.

Secondary spermatocytes appear to be a little smaller than primary spermatocytes but show a comparably high contents of organelles.

The different stages of spermatohistogenesis are described in details.

Compared with observations in other animals, no significant difference is prominent.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

- Amann, R.P.
Reproductive physiology of the bovine.
Thesis Pennsylvania State University (1962)
- Berchthold, M.
Die künstliche Besamung bei den Haustieren.
Schätz, F., VEB Gustav Fischer Verlag Jena (1963)
- Berndston, W.E. and Desjardin, C.
The cycle of the seminiferous epithelium and spermatogenesis in the bovine testis.
Am. J. Anat. 140: 167 (1974)
- Bielański, W. and Kaczmarek, F.
Morphology of spermatozoa in semen from stallion of normal fertility.
J. Rep. Fert. 27: 39 (1979)
- Brökelmann, J.
Fine structure of germ cells and Sertoli cells during the cycle of seminiferous epithelium of the rat.
Z. Zellforsch. 59: 820 (1963)
- Brown, H.H.
On spermatogenesis in the rat
Quart. J. Micr. Sc. 25: 343 (1985)
- Bryan, J.H.D.
On the presence of multinucleate spermatogenic cells in the seminiferous epithelium of the mouse.
Z. Zellforsch. 112: 333 (1971)

- Bryan, J.H.D. and Wolosewick, J.J.
Ultrastructural studies of spermiogenesis in multi-nucleate spermatids of the mouse.
Z. Zellforsch. 138: 155 (1973)

- Bustos-Obregon, E.; Courot, M.; Flechon, J.E.; Hochereau de Reviers, M.T. and Holstein, A.F.
Morphological appraisal of gametogenesis. Spermatogenic process in mammals with particular reference to man.
Andrologia 7: 141 (1975)

- Clermont, Y.
Cycle de l'épithélium séminal et mode de renouvellement des spermatogonies chez le hamster.
Rev. Can. Biol. 13: 208 (1954)

- Clermont, Y.
Structure de l'épithélium séminal et mode de renouvellement des spermatogonies chez le canard.
Arch. d'Anat. Micr. et de Morph. Exp. 47: 47 (1958)

- Clermont, Y.
Cycle of the seminiferous epithelium of the guinea pig. A method for identification of the stages.
Fert. Ster. 11: 536 (1960)

- Clermont, Y.
The proliferation and renewal of spermatogonia in man.
Anat. Res. 145: 219 (1963 a)

- Clermont, Y.
The cycle of the seminiferous epithelium in man.
Am. J. Anat. 112: 35 (1963 b)

- Clermont, Y.
Spermatogenesis in man. A study of the spermatogonial population.
Fert. Ster. 17: 705 (1966)
- Clermont, Y. and Bustos-Obregon, E.
Reexamination of spermatogonial renewal in the rat by means of seminiferous tubules mounted "in toto".
Am. J. Anat. 122: 237 (1968)
- Clermont, Y. and Harvey, S.C.
Duration of the cycle of the seminiferous epithelium of normal hypophysectomized and hypophysectomized-hormone-treated albino rats.
Endocrinology 76: 80 (1965)
- Clermont, Y. and Harvey, S.C.
Effects of hormones on spermatogenesis in the rat.
Colloquia on Endocrinology, G.E.W. Wolstenholme, M. O'Connor
J. u. A. Churchill; Ltd. London 16: 173 (1967)
- Clermont, Y. and Leblond, C.P.
Renewal of spermatogonia in the rat.
Am. J. Anat. 93: 475 (1953)
- Clermont, Y. and Leblond, C.P.
Spermiogenesis of man, monkey, ram and other mammals as shown by the "periodic acid Schiff technique".
Am. J. Anat. 96: 229 (1955)
- Clermont, Y. and Leblond, C.P.
Differentiation and renewal of spermatogonia in the monkey *Macacus rhesus*.
Rev. Cand. Biol. 104: 237 (1959)

- Curtis, G.H.
The morphology of the mammalian seminiferous tubule.
Am. J. Anat. 24: 339 (1918)
- Davidson, J.M.
Control of gonadotropin secretion in the male.
Acad. Press N.Y., London I: 565 (1966)
- Dym, M. and Cavicchia, J.C.
Functional morphology of the testis.
Biol. of Repr. 18: 1 (1978)
- Dym, M. and Fawcett, D.W.
Further observations on the number of spermatogonia,
spermatocytes and spermatids connected by inter-
cellular bridges in the mammalian testis.
Biol. of Repr. 4: 195 (1971)
- v. Ebner
Zur Spermatogenese bei den Säugethieren.
Arch. mikr. Anat. 31: 236 (1888)
- Ekstedt, E.; Söderquist, L.; Plöen, L.
Fine structure of spermatogenesis and Sertoli cells
(Epitheliocytus sustentans) in the bull.
Anat. Histol. Embryol. 15: 23 (1986)
- Fawcett, D.W.
Intercellular bridges.
Exp. Cell. Res. 8: 174 (1961)
- Fawcett, D.W.; Eddy, E.M. and Phillips, D.M.
Observations on the fine structure and relationship
of the cromatoid body in mammalian spermatogenesis.
Biol.Repr. 2: 129 (1970)

- Fawcett, D.W.; Susumu, J. and Slautterback, D.
The occurrence of intercellular bridges in groups
of cells exhibiting synchronous differentiation.
J. Bioph. and Bioch. Cyt. 5: 453 (1959)
- Gardner, P.J.
Fine structure of the seminiferous tubule of the
Swiss mouse. The spermatid
Anat. Rec. 155: 235 (1966)
- Gondos, B. and Zemianis, R.
Fine structure of spermatogonia and intercellular
bridges in *Macaca nemestrina*.
J. Morph. 131: 431 (1970)
- Heller, C.G. and Clermont, Y.
Spermatogenesis of man; an estimate of its duration.
Science 140: 184 (1963)
- Henricson, B. and Bäckström, L.
Spermatogenesis in the boar.
Acta. anat. 53: 276 (1963)
- Hilscher, W.
Kinetik der Prä spermatogenese und Spermatogenese.
Ver. Anat. Ges. 68: 39 (1974)
- Hochereau de Reviers, M.T.
Etudes des divisions spermatogoniales et du renouvellement
de la spermatogonie souche chez le taureau.
Thèse Doct. D'État Paris (1970)

- Holstein, A.F. and Wartenberg, H.
On the cytomorphology of human spermatogenesis.
Fortschritte der Andrologie Vol. 1
C. Schirren, Grosse Verlag Berlin (1970)
- Horstmann, E.
Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Sper-
mihistogenese beim Menschen.
Z. Zellforsch. 54: 68 (1961)
- Kramer, M.F.
Spermatogenesis bij de stier.
Diss. Utrecht (1960)
- Lacy, D.
Die Samenkanälchen der Säuger.
Endeavour 26: 101 (1967)
- Leblond, C.P. and Clermont, Y.
Definition of the stage of the cycle of the semini-
ferous epithelium in the rat.
Anu. N.Y. Acad. Sci. 55: 548 (1952 a)
- Leblond, C.P. and Clermont, Y.
Spermiogenesis of rat, mouse, hamster and guinea pig
as revealed by the "periodic acid-fuchsin sulferous
acid" technique.
Am. J. Anat. 90: 167 (1952 b)
- Leidl, W.
Steuerung und Beeinflußung der Samenbildungsprozesse.
Z. f. Tierzücht. u. Züchtungsbiol. 84: 273 (1968)

- Lengfelder, K.D.
Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Differenzierung männlicher Keimzellen des Rindes.
Diss. München (1978)
- Lostroh, A.J.
Hormonal Control of Spermatogenesis.
Regulatory mechanisms of male reproductive physiology.
Exc. Med. Amsterdam, The Netherlands
- Mollenhauer, H.H. and Morre, D.J.
Polyribosomes associated with forming acrosome membrans in guineapig spermatids.
Science 200: 85 (1978)
- Murphy, H.D.
Sertoli cell stimulation following intratesticular injections of FSH in the hypophysectomized rat.
Exp. Biol. Med. 118: 1202 (1965)
- Nicander, L. and Plöen, L.
Fine structure of spermatogonia and primary spermatocytes in rabbit.
Z. Zellforsch. 99: 221 (1969)
- Oakberg, E.F.
A description of spermiogenesis in the mouse and its use in analysis of the cycle of the seminiferous epithelium and germ cell renewal.
Am. J. Anat. 99: 391 (1956)
- Orgebin-Crist, M.C.
Passage of spermatozoa labelled with thymidin-3 H through the ductus epididymidis of the rabbit.
J. Repr. Fert. 10: 241 (1965)

- Orgebin, M.C.; Courot, M. and Ortravant, R.
Unpublished data cited by Ortravant.
Reproduction in Domestic Animals, 1. Ed.
Cole, H.H., Cupps, P.T. Acad. Press N.Y. (1959)
- Ortravant, R.
Étude des générations spermatogoniales chez le
Beliers.
C.R. Soc. Biol., Paris 148: 1858 (1954)
- Ortravant, R.
Spermatogenesis and morphology of the spermatozoon.
Reproduction in Domestic Animals, 1. Ed.
Cole, H.H., Cupps, P.T., Acad. Press N.Y. (1959)
- Ortravant, R.; Courot, M.; Hochereau, M.T.
Reproduction in Domestic Animals, 2nd Edition
Cole, H.H., Cupps, P.T.: 251 (1969)
- Perey, B.; Clermont, Y.; Leblond, C.B.
The wave of the seminiferous epithelium in the rat.
Am. J. Anat. 108: 47 (1961)
- Regaud, C.
Études sur la structure des Tubes séminifères et sur
la spermatogénèse chez les mammifères.
Arch. Anat. micr. Morph. exp. 4: 101 (1901)
- Roosen-Runge, E.C.
Kinetics of spermatogenesis in mammals.
Am. N.Y. Acad. Sci. 55: 574 (1952)

- Roosen-Runge, E.C.
Quantitative studies on spermatogenesis in the albino rat.
III. Volume changes in the cells of the seminiferous tubules.
Anat. Rec. 123: 385 (1955)
- Roosen-Runge, E.C.
The Process of spermatogenesis in mammals.
Biol. Rev. 37: 343 (1962)
- Roosen-Runge, E.C. and Barlow, F.D.
Quantitative studies on human spermatogenesis.
I. Spermatogonia.
Am. J. Anat. 93: 143 (1953)
- Roosen-Runge, E.C. and Giesel, L.O.
Quantitative studies on spermatogenesis in the albino rat.
Am. J. Anat. 87: 1 (1950)
- Rowley, M.J.; Berlin, J.D. and Heller, C.G.
The ultrastructure of four types of human spermatogonia.
Z. Zellforsch. 112: 139 (1971)
- Schefels, W.
Wirkung eines Sympathiko- und Parasympathikolytikums auf Hoden und Nebenhoden beim Kaninchen.
Diss. München (1965)
- Sinowatz, F. and Wrobel, K.H.
Development of the bovine acrosome. An ultrastructural and cytochemical study.
Cell. Tiss. Res. 219: 511 (1981)

- Swierstra, E.E.
Cytology and duration of the cycle of the seminiferous epithelium of the boar; duration of the spermatozoan transit through the epididymis.
Anat. Rec. 161: 124 (1968)
- Swierstra, E.E. and Foote, R.H.
Cytology and kinetics of spermatogenesis in the rabbit.
J. Rep. Fert. 5: 309 (1963)
- Swierstra, E.E. and Foote, R.H.
Duration of spermatogenesis and spermatozoan transport in the rabbit based on cytological changes, DNA synthesis and labelling with tritiated Thymidine.
Am. J. Anat. 116: 401 (1965)
- Swierstra, E.E.; Gebauer, M.R. and Pickett, B.W.
Reproductive physiology of the stallion.
I. Spermatogenesis and testis composition.
J. Rep. Fert. 40: 113 (1974)
- Tiba, T.
Methodologisch orientierte quantitative Untersuchungen der Spermatogenese beim Bullen.
Jap. J. Vet. Res. 13 (1965)
- Tobias, P.V.
Chromosomes, sex-cells and evolution in a mammal.
Humphry, London (1957)
- Turner, L.D.
General Endocrinology.
W.B. Saunders, Philadelphia, London 426 (1966)

- Vossmeier, J.
Zur Zytologie der pränatalen Gonaden-Entwicklung beim Menschen.
Z. Anat. Entw.-Gesch. 134: 146 (1971)
- Werner, G.
Ein Komplex multivesikulärer Körper und seine Rolle während der Spermiogenese bei *Dytiscus marginalis* (Coleoptera).
Mikroskopie 32: 351 (1976)
- Woods, M.C. and Simpson, M.E.
Pituitary control of the testis of the hypophysectomized rat.
Endocrinology 69: 91 (1961)

Ich danke Herrn Prof. Dr. H.-G. Liebich herzlich für die Überlassung des Themas und seine unermüdliche, freundliche Hilfe in Rat und Tat, mit der er die Fertigstellung dieser Arbeit möglich machte.

Mein Dank gilt auch Frau Roming, Frau Münster und Frau Winkler, ohne deren verlässlichen Einsatz die technische Bewältigung des Themas undenkbar gewesen wäre.

Für die freundliche Bereitstellung des Morphomaten und Einweisung danke ich Herrn Priv. Doz. Dr. Dr. habil. A. Pospischil vom Institut für Tierpathologie.

Besonders danke ich Frau Dembowy für die gewissenhafte Abschrift des Manuskriptes und Hilfe bei der optischen Gestaltung der Arbeit.

L E B E N S L A U F

Am 30.5.1957 wurde ich, Thomas Kröning, als vierter Sohn meiner Eltern Ilsetraut Kröning, geb. Schade und Günther Kröning in Melle, Niedersachsen, geboren.

1960 siedelten wir nach Hückeswagen in Nordrhein-Westfalen um, wo mein Vater als Stadtdirektor tätig war.

Von 1963 bis 1966 besuchte ich die dortige evangelische Volksschule und wechselte dann auf das Städtische neusprachliche und naturwissenschaftliche Röntgen-Gymnasium in Remscheid-Lennep über.

Im Sommer 1975 legte ich dort mein Abitur ab und bewarb mich für das Studium der Tiermedizin.

Zwischen Oktober 1975 und September 1977 leistete ich meinen Wehrdienst in Wuppertal ab.

Im Oktober 1977 trat ich zunächst eine Praktikantenstelle und später einen Arbeitsplatz als Tierpfleger im Zoologischen Garten der Stadt Wuppertal an, den ich bis Ende September 1979 beibehielt.

Nach meiner Zulassung zum Tiermedizin-Studium zum Wintersemester 1979 studierte ich an der Tierärztlichen Fakultät der Universität München, absolvierte dort am 13. November 1984 erfolgreich die Tierärztliche Prüfung und erhielt im selben Jahr meine Approbation als Tierarzt.

Seit dem 1.12.1984 arbeite ich als vollbeschäftigte wissenschaftliche Hilfskraft am Institut für Tierpathologie der Universität München.

Im Mai 1985 heiratete ich Frau Cornelia Krämer aus Wuppertal.

Das Thema der vorliegenden Arbeit wurde mir im Jahre 1982 gestellt.

